

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

FBP-7287-61956

**HODNOTENIE MIERY RIZIKA PRÍJMU XENOBIOTÍK
POUŽITÍM GÉNOVÉHO ČIPU
Diplomová práca**

2017

Monika Ceperková, Bc

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

FBP-7287-61956

**HODNOTENIE MIERY RIZIKA PRÍJMU XENOBIOTÍK
POUŽITÍM GÉNOVÉHO ČIPU**

Diplomová práca

Študijný program: Bezpečnosť a kontrola potravín
Študijný odbor: Spracovanie poľnohospodárskych produktov
Školiace pracovisko: Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Vedúci záverečnej práce: doc. Ing. Radoslav Židek, PhD.

2017

Monika Ceperková, Bc.

Čestné vyhlásenie

Vyhlasujem, že predloženú záverečnú prácu som vypracovala samostatne a všetky použité literárne a elektronické zdroje som uviedla v zozname bibliografie.

.....

Monika Ceperková

Pod'akovanie

Týmto ďakujem môjmu školiteľovi **doc. Ing. Radoslavovi Židekovi, PhD.** za prejavenú dôveru a možnosť spracovať tému tejto záverečnej práce, ako aj za odbornú i praktickú pomoc, trpezlivosť a dodanú motiváciu pri jej písaní. Moje pod'akovanie taktiež patrí spoločnosti **Nu3gen s.r.o.** za spoluprácu a poskytnutie potrebných informácií.

Abstrakt

CEPERKOVÁ, Monika: *Hodnotenie miery rizika príjmu xenobiotík použitím génového čipu*. [Diplomová práca]. – Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. Fakulta biotechnológie a potravinárstva; Katedra hygieny a bezpečnosti potravín. Vedúci diplomovej práce: doc. Ing. Radoslav Židek, PhD., Nitra. SPU FBP, 2017. 54 s.

Záverečná práca sa zaoberá *in silico* analýzou miery rizika príjmu nesteroidných antiflogistík neviazaných na lekársky predpis využitím génového čipu *Illumina Omni Express-24*, konkrétne trom najpredávanejším liekom – na báze kyseliny acetylsalicylovej (viac ako 7 miliónov predaných tabletiék ročne), paracetamolu (viac ako 75 miliónov tabletiék za rok) a ibuprofenu (viac ako 65 miliónov predaných tabletiék za rok). Cieľom práce bolo vyhodnotiť mieru rizika príjmu voľnopredajných liekov v európskej populácii a zvolený spôsob aplikovať na zhodnotenie reálnej distribúcie rizika na štatistickej skupine 44 jedincov reprezentujúcich populáciu Slovenskej republiky. V teoretickej časti sú analyzované lieky rozdelené do štyroch hlavných skupín podľa obsiahnutého liečiva a každá skupina je ďalej popísaná pomocou dostupných informácií z doterajších štúdií, ktoré sú platné pre typickú zložku populácie. Analýza pozostávala v prvom kroku z výberu súvisiacich bodových mutácií priradených ku štyrom metabolizmom, ktoré boli opísané v teoretickej časti. V druhom kroku sa praktická časť záverečnej práce popisuje distribúciu rizika v európskej populácii. V závere práce je vypracovaných 44 personálnych profilov, u 20 jedincov sme potvrdili bezpečnosť voľnopredajných liekov a u zvyšných 24 vytvorili odporúčania pre užívanie týchto liekov v budúcnosti.

Kľúčové slová: riziko, xenobiotikum, analgetikum, mutácia

Abstract

CEPERKOVÁ, Monika: *Risk assessment of xenobiotics intake using gene chip*. [Thesis]. – Slovak University of Agriculture in Nitra. Faculty of Biotechnology and Food Science; Department of Food Hygiene and Safety. Thesis supervisor: Assoc.Prof. Ing. Radoslav Židek, PhD., Nitra. SPU FBP, 2017. 54 p.

The final thesis deals with *in silico* analysis of the OTC non-steroidal anti-inflammatory drugs intake risk level using the *Illumina Omni Express-24* gene chip, in particular the three best-selling drugs – based on acetylsalicylic acid (more than 7 million tablets sold per year), based on paracetamol (more than 75 million pills per year) and based on ibuprofen (more than 65 million tablets sold per year). The goal was to assess the risk level of intake of OTC drugs in European population and applied the same method to assess the real risk distribution for statistic group of 44 individuals representing the population of Slovak Republic. In the theoretical part are analyzed drugs divided into four main groups according to the drug base that these drug contain, and each group is further described using available information from existing studies that are valid for a main component of the population. The first step of the analysis consisted of the selection of the relevant one-gene mutations associated to four metabolisms that have been described in the theoretical part. In the second step, the practical part of the final thesis describes the risk distribution in European population. Conclusion provide 44 personnel profiles. We have confirmed the safety of using the OTC drugs for 20 individuals and formed recommendations for the rest 24 individuals for the future use of these medicines.

Key words: risk, xenobiotic, analgetic, mutation

Obsah

Zoznam ilustrácií	8
Zoznam tabuliek	9
Zoznam skratiek.....	10
ÚVOD.....	11
1. PREHĽAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	13
1.1 Lieky s analgetickým účinkom	14
1.2 Mechanizmus účinku	16
1.3 Rozdelenie.....	18
1.3.1 Lieky na báze kyseliny salicylovej	19
1.3.2 Lieky na báze anilidov	21
1.3.3 Lieky na báze ibuprofenu	23
1.3.4 Lieky na báze naproxenu	26
1.4 Metabolizmus a biotransformácia	27
2. CIELE PRÁCE	32
3. METODIKA PRÁCE	33
4. VÝSLEDKY A DISKUSIA	37
4.1 Výsledky analýzy miery rizika príjmu kyseliny acetylsalicylovej	38
4.2 Výsledky analýzy miery rizika príjmu paracetamolu	39
4.3 Výsledky analýzy miery rizika príjmu ibuprofenu	40
4.4 Výsledky analýzy miery rizika príjmu naproxenu	42
4.5 Vyhodnotenie genetického profilu analyzovaných jednotlivcov	44
ZÁVER.....	46
BIBLIOGRAFIA	48

Zoznam ilustrácií

- Obrázok 1:** Schéma procesu tvorby prostaglandínov so znázorneným miestom inhibície nesteroidnými antiflogistikami (str. 18)
- Obrázok 2:** Schéma biotransformácie kyseliny acetylsalicylovej (str. 28)
- Obrázok 3:** Schéma biotransformácie paracetamolu (str. 29)
- Obrázok 4:** Schéma biotransformácie ibuprofénu (str. 30)
- Obrázok 5:** Schéma biotransformácie naproxénu (str. 31)
- Obrázok 6:** Náhl'ad na webovú stránku SNPedia (str. 33)
- Obrázok 7:** Náhl'ad na webovú stránku DrugBank (str. 34)
- Obrázok 8:** Náhl'ad na webovú aplikáciu Ldlink (str. 34)
- Obrázok 9:** Náhl'ad na webovú stránku dbSNP (str. 35)
- Obrázok 10:** Náhl'ad na webovú stránku PharmGKB (str. 35)
- Obrázok 11:** Distribúcia rizika príjmu kyseliny acetylsalicylovej (str. 39)
- Obrázok 12:** Distribúcia rizika príjmu paracetamolu (str. 40)
- Obrázok 13:** Distribúcia rizika príjmu ibuprofénu (zobrazenie relevantných hodnôt 0-15) (str. 42)
- Obrázok 14:** Distribúcia rizika príjmu naproxénu (zobrazenie relevantných hodnôt 0-15) (str. 43)

Zoznam tabuliek

- Tabuľka 1:** Prehľad spotreby liekov proti bolesti (str. 12)
- Tabuľka 2:** Rozdelenie nájdených bodových mutácií podľa liečiva (str. 37)
- Tabuľka 3:** Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus kyseliny acetylsalicylovej (str. 38)
- Tabuľka 4:** Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus paracetamolu (str. 39)
- Tabuľka 5:** Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus ibuprofenu (str. 41)
- Tabuľka 6:** Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus naproxenu (str. 42)
- Tabuľka 7:** Prehľad sumárnych hodnôt genetického skóre analyzovaných jedincov (str. 44)
- Tabuľka 8:** Grafická sumarizácia odporúčaní pre analyzovaných jedincov (str. 45)

Zoznam skratiek

ATC	anatomicko – terapeuticko – chemický (klasifikačný systém)
COX-1	cyklooxygenáza 1, prostaglandín – endoperoxid syntáza 1
COX-2	cyklooxygenáza 2, prostaglandín – endoperoxid syntáza 2
COX-3	cyklooxygenáza 3
CYP1A2	enzým cytochrómu P450 (skupina 1, podskupina A, polypeptid 2)
CYP2B6	enzým cytochrómu P450 (skupina 2, podskupina B, polypeptid 6)
CYP2B7	enzým cytochrómu P450 (skupina 2, podskupina B, polypeptid 7)
CYP2C8	enzým cytochrómu P450 (skupina 2, podskupina C, polypeptid 8)
CYP2C9	enzým cytochrómu P450 (skupina 2, podskupina C, polypeptid 9)
CYP2C19	enzým cytochrómu P450 (skupina 2, podskupina C, polypeptid 19)
CYP2D6	enzým cytochrómu P450 (skupina 2, podskupina D, polypeptid 6)
CYP2E1	enzým cytochrómu P450 (skupina 2, podskupina E, polypeptid 11)
CYP3A4	enzým cytochrómu P450 (skupina 3, podskupina A, polypeptid 4)
NAPQI	<i>N</i> -acetyl- <i>p</i> -benzochinón imín
NSAID	<i>(Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug)</i> nesteroidné antiflogistikum
PTGS1	cyklooxygenáza 1, prostaglandín – endoperoxid syntáza 1
PTGS2	cyklooxygenáza 2, prostaglandín – endoperoxid syntáza 2
SULT1A1	sulfotransferáza (skupina 1A, polypeptid 1)
SULT1A3	sulfotransferáza (skupina 1A, polypeptid 3)
SULT1A4	sulfotransferáza (skupina 1A, polypeptid 4)
SULT1E1	sulfotransferáza (skupina 1E, polypeptid 1)
SULT2A1	sulfotransferáza (skupina 2A, polypeptid 1)
UGT1A1	uridín difosfát glucuronozyltransferáza (skupina 1, polypeptid A1)
UGT1A6	uridín difosfát glucuronozyltransferáza (skupina 1, polypeptid A6)
UGT1A9	uridín difosfát glucuronozyltransferáza (skupina 1, polypeptid A9)
UGT2B15	uridín difosfát glucuronozyltransferáza (skupina 2, polypeptid B15)

ÚVOD

Súčasný technologický pokrok so sebou prináša aj celé spektrum rizík. Aj napriek sústavnej snahe o zlepšovanie kvality ľudského života sa xenobiotiká stali jeho súčasťou a úplné zamedzenie ich vstupu do ľudského organizmu je už takmer nemožné. Absorbácia xenobiotík pritom vôbec nie je cieľená a ide napríklad o inhaláciu spalín a škodlivín zo vzduchu, kontamináciu pokožky tela alebo konzumáciu potravín obsahujúcich ťažké kovy, nevhodné prídavné látky alebo ich nadbytok a taktiež reziduá pesticídov. **(Knejzlík et al., 1999)** Ľudia sa aj vďaka vysokej informovanosti a sebazvedávaniu snažia vyhýbať rizikovým situáciám, kedy by ich telo prišlo do kontaktu s takýmito škodlivými látkami.

Čo však v prípade, keď človek dobrovoľne prijíma xenobiotiká v nevedomosti, že jediná hranica medzi ich prospešným a škodlivým účinkom spočíva v ich prijatom množstve a jedinečnosti jeho organizmu? Toto je konkrétne prípad humánnych liekov. Lieky, aj navzdory najlepším úmyslom pri ich požívaní, stále ostávajú xenobiotikami, ktoré sú pre organizmus neprirodzené.

Rýchly a rozmanitý životný štýl, rôzne spoločenské a ekonomické faktory a v neposlednom rade aj konzumný spôsob života rapídne prispievajú k nezodpovednej samoliečbe. Pre bežného spotrebiteľa ešte stále ostáva prijateľnejšie riešiť akútne symptómy svojej choroby ako sa hĺbkovo a odborne zaoberať príčinami jej vzniku. Tento fakt, ako aj omnoho vyššia časová dostupnosť lekárni oproti lekárskeým ambulanciám, navyše s podporou narastajúceho farmaceutického marketingu, dávajú živnú pôdu nadmernému užívaniu voľnopredajných liekov.

Niet teda divu, že keď sa pozrieme na prehľad 50 najpredávanejších liekov bez lekárskeho predpisu na Slovensku, na prvých troch pozíciách sa umiestňujú vždy tie isté lieky – Ibalgin, Paralen a Acylpyrin, lieky vyhľadávané hlavne kvôli utlmeniu bolesti a zmierneniu prejavov prechladnutia. **(Národné centrum zdravotníckych informácií, 2011)** Dalo by sa povedať, že tieto tri lieky, ako aj ďalšie im zložením podobné, sa stali priam súčasťou jedálňička niektorých ľudí a čoraz viac sa ich požívanie sarkasticky prirovnáva ku konzumácii lentiliek. Pre veľmi laický náhľad uvedieme, že ročne sa na Slovensku priemerne skonzumuje dokopy viac ako 60 ton liečiva účinného proti bolesti **(Tabuľka 1)**.

Tabuľka 1: Prehľad spotreby liekov proti bolesti

	Kys. acetylsalicylová (Acylpyrín, Aspirín,...)	Paracetamol (Paralen, Panadol,...)	Ibuprofén (Ibalgin, Nurofen,...)
2016	3,331	35,04	19,703
2015	3,558	35,806	22,361
2014	3,488	31,351	22,428
2013	3,788	36,888	25,533

Hodnoty v tabuľke uvádzajú množstvo liečiva v tonách.

Zdroj: (Národné centrum zdravotníckych informácií, 2011)

Je nutné pripomenúť, že aj napriek prísnyh kontrolám, ktoré predchádzajú registrácií liekov, predaj liekov neviazaných na lekársky predpis nepodlieha žiadnej ďalšej regulácií. Pri porovnaní s alkoholom, o ktorom sa stále tvrdí, že v nízkych dávkach má pozitívne účinky na ľudský organizmus, predaj voľnopredajných liekov nemá vekové obmedzenie a lieky sa môžu dostať do rúk deťom a mladistvým, ktorých organizmus nie je stavaný na tak vysoké dávky ako organizmus dospelého jedinca. Taktiež neexistuje regulácia v množstve predaného preparátu a jediné na čo by sa pri pojednávaní o bezpečnosti dalo spoľahnúť, je predpoklad, že sa spotrebiteľ poradí s lekárnikom a že si prečíta príbalovú informáciu. **(S-EPI, s. r. o., 2010)**

V tejto práci analyzujeme mieru rizika príjmu týchto liekov pomocou génového čipu. Táto analýza by, okrem iného, mala poukázať na to, že ako je každý jedinec po genetickej stránke jedinečný, tak je jedinečný aj jeho metabolizmus. Terapeutická dávka, ktorá je postačujúca pre určitú skupinu, môže byť vážne toxická pre inú a naopak úplne neúčinná pre ďalšiu. V prípade závažného ochorenia je otázne, u koho ide o väčšie riziko – či u skupiny, ktorej liek vyvolá vážne nežiaduce účinky alebo u skupiny, ktorej liek na chorobný stav nezaberie.

1. PREHLAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Zvýšená priemyselná výroba, industrializácia, urbanizácia, ale aj pokrok v poľnohospodárskej výrobe a rýchly životný štýl sa stali pravidelným zdrojom xenobiotík pre ľudský organizmus. Všeobecne povedané, xenobiotiká sú cudzie chemické látky, ktoré ľudský organizmus neprodukuje alebo sa nepredpokladá, že by sa v ňom prirodzene nachádzali (z gréckeho xenos – cudzinec, bios - život). **(Merriam-Webster Inc., 2017)** Tieto látky však už aj v malých množstvách vykazujú biologickú aktivitu a majú rôzne (väčšinou nežiaduce) účinky na organizmus. Medzi tieto účinky môžeme rátať už aj menej závažné alergie, ale hlavne ide o účinky hepatotoxické, nefrotoxické, karcinogénne, neurotoxické, tiež vážnejšie mutagénne a teratogénne, ako aj ich schopnosť týchto látok kumulovať sa v organizme. **(Knejzlík et al., 1999)**

Existuje nespočetne veľké množstvo látok, ktoré by mohli byť označené pojmom xenobiotikum. Medzi najdiskutovanejšie nepochybne patria pesticídy, herbicídy, rôzne prídavné látky, ťažké kovy či organické zlúčeniny obsahujúce vo svojej štruktúre jeden alebo viac halogénov. Všetky tieto a ďalšie látky sú už v dnešnej dobe známe a to nie len odbornej, ale aj laickej verejnosti a je sústavná snaha o znižovanie ich prenikania do ľudského organizmu.

Okrem spomínaných látok, pri ktorých už automaticky hovoríme o ich škodlivých účinkoch, však netreba zabúdať na podstatnú skupinu xenobiotík a to sú liečivá. K liečivám a liekom človek pristupuje skôr pozitívne, nakoľko ich konzumácia je prezentovaná ako napomáhajúca zlepšeniu chorobnému stavu organizmu, a ak už je aj škodlivosť liekov verejnosťou vnímaná, ide skôr o lieky, ktoré organizmus veľmi ťažko znáša, a to napríklad o chemoterapeutiká, cytostatiká, psychostimulanciá či antidepresíva. Treba taktiež pripomenúť, že aj antibiotiká, hoci ide o látky prírodného pôvodu, keďže sú to sekundárne metabolity mikroskopických vláknitých húb; patria medzi xenobiotiká, nakoľko sú pre človeka cudzie a ľudský organizmus ich prirodzene neprodukuje. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

Hlavne však netreba zabúdať na lieky, ktoré sa už u väčšiny ľudskej populácie stali priam súčasťou ich bežného života a to sú lieky zmierňujúce bolesť, ku ktorým sa bežný spotrebiteľ dostane aj bez predchádzajúceho vyšetrenia lekárom.

1.1 Lieky s analgetickým účinkom

Pre čo najlepšie uchopenie problematiky nadmerného požívania analgetických liekov neviazaných na lekársky predpis je nutné začať pri samotnej klasifikácii a definícii daných liekov.

Pre zlepšenie výskumu a využitia liekov a liečiv v roku 1975 Severská rada pre lieky (Nordic Council on Medicines) v spolupráci s nóorskymi vedcami vypracovala Anatomicko-terapeuticko-chemický (ATC) klasifikačný systém. Ten v roku 1996 prevzala Svetová zdravotnícka organizácia ako medzinárodný štandard pre využitie liekov. **(WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2009)** Tento systém klasifikuje humánne lieky na piatich úrovniach: **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

1. Prvá úroveň: Zaradenie lieku do jednej zo štrnástich hlavných anatomických skupín (označenie písmenom)
2. Druhá úroveň: Zaradenie do hlavnej terapeuticko-chemickej skupiny (označenie dvoma arabskými číslicami)
3. Tretia úroveň: Zaradenie do terapeuticko-chemickej podskupiny (označenie písmenom)
4. Štvrtá úroveň: Zaradenie do chemickej, terapeuticko-chemickej alebo farmakologickej podskupiny (označenie písmenom)
5. Piata úroveň: Zaradenie do chemickej podskupiny (označenie dvoma arabskými číslicami)

Ak by sme sa pozerali na definíciu slova analgetikum (z gréckeho analgēsia, negujúca predpona an- + algēsis „pocit bolesti“) **(Merriam-Webster Inc., 2017)**, mohli by sme povedať, že ide o liek potláčajúci pocitovanie bolesti. Je potrebné skutočne zdôrazniť fakt, že analgetiká príčinu vzniku bolesti neriešia, len utlmujú jej vnímanie a preto ich podľa ATC klasifikácie nájdeme medzi liekmi ovplyvňujúcimi práve centrálnu nervovú sústavu. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

Pri ďalšom rozdelení sa dostávame k trom skupinám analgetík: „Ópioidné analgetiká (anodyná)“, „Iné analgetiká a antipyretiká“ a „Antimigreniká“. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

Len v jednej z týchto skupín nájdeme lieky proti bolesti, ktoré v Slovenskej republike nie sú viazané na lekársky predpis a to v skupine „Iné analgetiká a antipyretiká“. Podľa § 51 zákona č. 362/2011 Z. z. o liekoch a zdravotníckych pomôckach totiž lieky neviazané na

lekársky predpis nesmú obsahovať omamnú látku II. skupiny ani psychotropnú látku II. skupiny, ktoré bližšie definuje *Zákon č. 139/1998 Z. z. o omamných látkach, psychotropných látkach a prípravkoch*, (S-EPI, s. r. o., 2010) čo hneď vylučuje skupinu ópoidných analgetík a taktiež antimigreniká, nakoľko ide o prípravky obsahujúce námeľové alkaloidy a/alebo triptány. (Bartleson et al., 2010)

Je potrebné povedať, že aj v skupine „Iné analgetiká a antipyretiká“ sa nachádzajú lieky viazané na lekársky predpis, ale nakoľko nie všetky sú distribuované v Slovenskej republike, považujeme toto množstvo za minoritné až zanedbateľné. Každopádne, v tejto skupine sa už rozdeľujú lieky podľa účinnej látky a to konkrétne na lieky na báze kyseliny salicylovej a lieky na báze anilidov. V skutočnosti nájdeme ešte jednu skupinu liekov a to lieky na báze pyrazolónov. Keď sa však bližšie pozrieme na preparáty dostupné bez lekárskeho predpisu, derivát pyrazolónu je v nich zastúpený len ako doplnkové liečivo ku paracetamolu a tým pádom hovoríme skôr o liekoch na báze anilidov, konkrétne o skupine liekov obsahujúcich paracetamol v kombinácií s výnimkou psycholeptík. (PharmINFO spol. s r.o., 2012)

Tu však s uvedenou definíciou nastáva problém, akonáhle sa pozrieme na rozdelenie liekov cez indikačné skupiny. Toto rozdelenie liekov je staršie ako systém ATC klasifikácie a umožňuje, že jeden liek môže byť zaradený do viacerých skupín podľa toho, aké všetky účinky na ľudský organizmus má. (Komárek, 2006) A tak sa k už spomínaným analgetikám neviazaným na lekársky predpis pridáva ďalšia skupina – lieky na báze ibuprofenu. (PharmINFO spol. s r.o., 2012)

Tieto štyri skupiny majú okrem analgetického účinku na ľudský organizmus aj účinok antipyretický, čiže znižujú telesnú teplotu, (Merriam-Webster Inc., 2017) ktorej zvýšenie bolo spôsobené ochorením a vnútornými zápalovými prejavmi; (Aronoff et al., 2001) a taktiež majú aj protizápalový účinok. Tieto tri účinky sú typické pre kategóriu liekov, ktorá je známy hlavne pod svojim anglickým názvom NSAIDs (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs). (Buer, 2014) V slovenčine tejto veľkej skupine hovoríme nesteroidné antiflogistiká. Táto skupina liekov zahŕňa množstvo ďalších liekov, avšak na Slovensku sa (okrem už spomínaných) predáva bez lekárskeho predpisu len jedna skupina z nich a to lieky na báze naproxenu. (PharmINFO spol. s r.o., 2012)

1.2 Mechanizmus účinku

Pre objasnenie mechanizmu účinku nesteroidných antiflogistík je potrebné sa zamerať na ich tri spomínané účinky – antipyretický, protizápalový a analgetický. Pre všetky tri chorobné stavy, proti ktorým sú nesteroidné antiflogistiká účinné, existuje spoločný príčinný menovateľ a to prostaglandíny. **(Lenz et al., 2013)**

Prostaglandíny sú fyziologicky aktívne látky na báze lipidov, ktoré u živočíchov vykazujú aktivitu podobnú hormónom. Spoločným znakom všetkých prostaglandínov je ich molekulová štruktúra – reťazec z dvadsiaticich atómov uhlíka, z ktorých päť je viazaných cyklicky. Čím sa líšia, sú ich rôzne, niekedy až antagonistické, biologické účinky závisiace od druhu receptorov na ktoré pôsobia v rôznych druhoch tkanív. V tomto sa tiež líšia od skutočných endokrinných hormónov, ktoré sú v tele produkované v konkrétnom jednom mieste. Prostaglandíny sú teda produkované na rôznych miestach v ľudskom tele a pôsobia na bunky, ktoré sú blízko miesta ich sekrécie. Je teda úplne bežné, že jeden typ prostaglandínu dokáže stimulovať a zároveň inhibovať tú istú reakciu pokiaľ sa nachádza v inom tkanive. **(Nelson, 2015)** Z celého radu účinkov na ľudský organizmus však vyberieme tie, ktoré nás vo vzťahu k nesteroidným antiflogistikám zaujímajú, a to zvyšovanie citlivosti miechových neurónov na bolesť, účinok na regulačný systém zápalových procesov a pôsobenie v termoregulačnom centre hypotalamu. **(Lenz et al., 2013)**

Prostaglandíny sú v organizme vytvárané v procese sekvenčnej oxidácie kyseliny arachidonovej za pôsobenia enzýmu cyklooxygenázy **(Nelson, 2015)** a to konkrétnej jej dvoch izoform:

- COX-1, ktorá je zodpovedná za základnú úroveň tvorby prostaglandínov, ide o koštitutívny enzým zapájajúci sa do tkanivovej homeostázy; v medicínskej literatúre ju nájdeme aj pod skratkou PTGS1 (v ľudskom organizme je kódovaná PTGS1 génom)
- COX-2, ktorá produkuje prostaglandíny na základe stimulácie zápalovým procesom alebo procesom rastu; v medicínskej literatúre ju nájdeme aj pod skratkou PTGS2 (v ľudskom organizme je kódovaná PTGS2 génom)

Obe izoformy daného enzýmu sa od seba veľmi nelíšia. Ich molekulová hmotnosť je takmer rovnaká, rovnako ako poradie aminokyselín či poloha katalytických miest. Jediný

rozdiel spočíva v substitúcií na pozícií 523 – pri COX-1 sa na tejto pozícií nachádza aminokyselina valín a pri COX-2 aminokyselina izoleucín. Veľmi malé, zvyškové množstvo valínu pri COX-2 vytvára v štruktúre akési bočné vrečko (z angl. *side pocket*), ktoré je schopné na seba viazať objemné skupiny a tým brániť prístupu inhibítora k COX-1. Toto je dôvod, prečo niektoré inhibítory budú selektívne inhibovať práve COX-2 (tzv. koxiby). **(Rang et al., 2007)**

Je samozrejme známa aj tretia izoforma COX-3, ale jej funkcia nie je úplne preskúmaná a v súčasnosti sa považuje za katalyticky neaktívnu. COX-1 aj COX-2 sa obe nachádzajú v stenách krvných ciev, stenách žalúdka (čo bude neskôr vysvetľovať aj negatívne účinky nesteroidných antiflogistík) a v obličkách. **(Rang et al., 2007)**

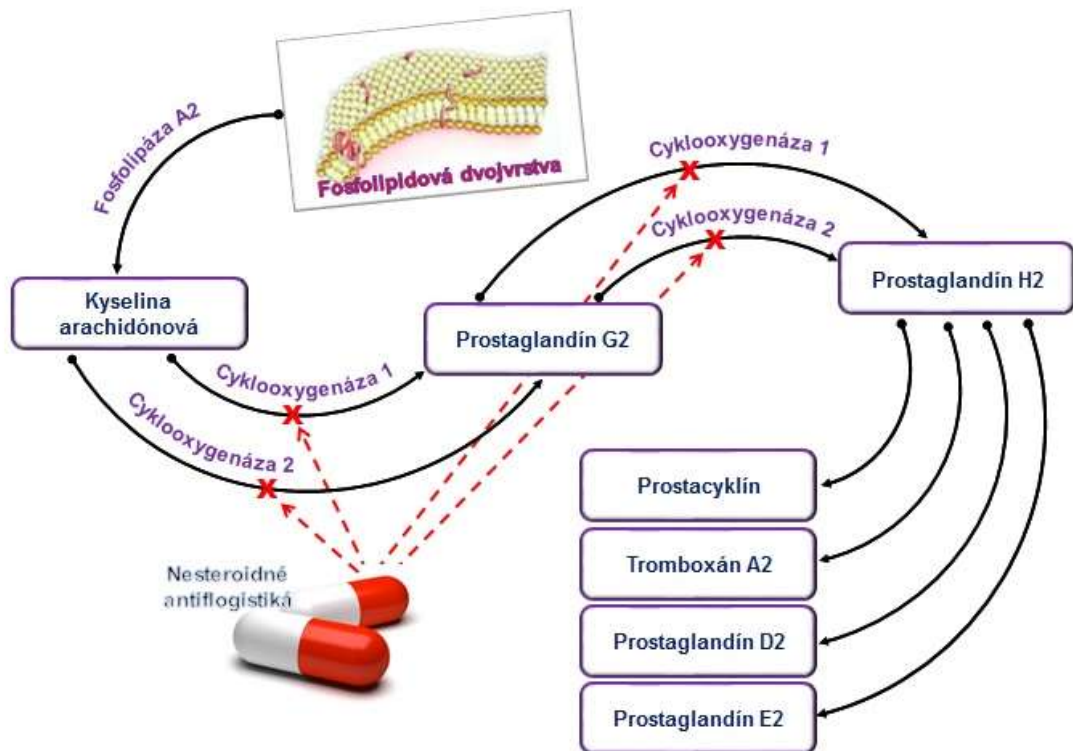
Reakcia tvorby prostaglandínov je kľúčovým miestom pôsobenia nesteroidných antiflogistík, nakoľko ich mechanizmus účinku spočíva v inhibícií cyklooxygenázy. **(Obrázok 1)** Zväčša ide o neselektívnu inhibíciu cyklooxygenázy, čiže dané antiflogistikum môže inhibovať rovnako COX-1 aj COX-2 izoenzym. Inhibícia ako taká je síce reverzibilná, ale s rozličným stupňom reverzibility. **(Botting, 2006)** Úplná anomália medzi nesteroidnými antiflogistikami je kyselina acetylsalicylová, ktorá spôsobuje ireverzibilnú inhibíciu COX-1 a modifikáciu enzymatickej aktivity COX-2. Pri tejto inhibícií kyselina acetylsalicylová vystupuje ako acylačné činidlo a kovalentnými väzbami pripája acetylové skupiny na voľný zvyšok serínu v aktívnom mieste COX-1. Predpokladá sa, že látky, ktoré majú skôr tendenciu inhibovať COX-1 sú práve tie, ktoré majú najväčšie negatívne účinky na gastrointestinálny trakt a inhibícia COX-2 je spojená s protizápalovým a anagetickým účinkom. Je teda logické, že selektívna inhibícia COX-2 by bola najlepšou formou terapie, avšak pri užívaní tejto skupiny liekov bolo preukázané zvýšene riziko pre kardiovaskulárny systém. **(Rang et al., 2007)**

COX-1 aj COX-2 sú oba bifunkčné enzýmy majúce dva odlišné a dopĺňajúce sa katalytické účinky:

- Pri prvom kroku vystupujú ako dioxygenázy, kedy začleňujú dve molekuly kyslíka do reťazca kyseliny arachidónovej na C₁₁ a C₁₅ uhlíku, čo vede k tvorbe vysoko nestabilného endoperoxidu s hydroxyperoxidovou skupinou na uhlíku C₁₅ – prostaglandín G₂. **(Rang et al., 2007)**
- Pri druhom kroku vystupujú ako peroxidázy a konvertujú prostaglandín G₂ na prostaglandín H₂, ktorý má na C₁₅ uhlíku hydroxy skupinu. **(Rang et al.,**

2007) Prostaglandín H2 je prekuzorom, ktorý môže byť následne transformovaný spôsobom špecifickým pre konkrétne bunky samostatnými izomerázami, reduktázami alebo syntázami. (Van der Donk et al., 2002)

Väčšina nesteroidných antiflogistík inhibuje práve proces dioxygenácie, rozdiel je jedine v časových priebehoch tejto inhibície. Všeobecne inhibícia COX-1 prebieha rýchlo, naproti tomu inhibícia COX-2 vyžaduje viac času a je pri nej vyššia pravdepodobnosť, že pôjde o ireverzibilnú inhibíciu. Na vyblokovanie enzýmu vstupujú nesteroidné antiflogistiká do hydrofóbneho kanálu, kde vytvoria vodíkové väzby s arginínovým zvyškom a tak zabránia prístupu substrátu ku katalyzátoru. (Rang et al., 2007)



Obrázok 1: Schéma procesu tvorby prostaglandínov so znázorneným miestom inhibície nesteroidnými antiflogistikami

1.3 Rozdelenie

Keď sa teda pozrieme na nákup v lekární priemerného slovenského spotrebiteľa pri potrebe utíšenia bolesti bez predošlého lekárskeho vyšetrenia, má možnosť výberu z nasledovných možností: (PharmINFO spol. s r.o., 2012)

1. Lieky na báze kyseliny salicylovej (konkrétne kyseliny acetylsalicylovej)
2. Lieky na báze anilidov (konkrétne paracetamolu)
3. Lieky na báze ibuprofenu
4. Lieky na báze naproxenu

A hoci všetky tieto lieky patria do jednej skupiny, ktorá z časti charakterizuje ich hlavné účinky, nájdeme medzi nimi niektoré podstatné odlišnosti. Definovanie týchto odlišností je dôležitým krokom pri pojednávaní o nadmernom užívaní týchto liekov.

1.3.1 Lieky na báze kyseliny salicylovej

Kyselina salicylová [$C_7H_6O_3$, *kyselina 2-hydroxybenzoová* (**Favre, 2013**)] je organická kyselina patriaca do veľkého množstva fenolových zlúčenín nachádzajúcich sa v rastlinách. Jej názov je odvodený z latinského *salix*, čo je pomenovanie pre vrbu, nakoľko je možné ju pripraviť práve z vrbovej kôry. Vyrába tiež sa biosyntézou z aminokyseliny fenylalanín a komerčne sa pripravuje Kolbe-Schmittovou reakciou z fenolátu sodného a oxidu uhličitého pri vysokej teplote a tlaku. (**Hayat et al., 2013**)

Farmaceuticky významný je však hlavne jej derivát kyselina acetylsalicylová [$C_9H_8O_4$, *kyselina 2-acetyloxybenzoová* (**Favre, 2013**)]. Pripravuje sa esterifikáciou kyseliny salicylovej katalyzovanou malým množstvom kyseliny sírovej alebo kyseliny trihydrogenfosforečnej. (**Palleros, 2000**)

Ako sme už spomínali, jej účinky sú hlavne analgetické, antipyretické a protizápalové, vďaka čomu sa používa na široké spektrum chorobných stavov – hlavne na zmiernenie horúčky, bolesti, reumatickej horúčky a zápalových ochorení, ako je reumatoidná artritída, perikartitída a tiež Kawasakiho choroby. (**AHFS DI Essentials, 2016**) Klinicky sa tiež preukázalo, že znižuje riziko úmrtia pri akútnom srdcovom infarkte (**U.S. Department of Health and Human Services, FDA, 2014**) a v niektorých prípadoch aj riziko cievnej mozgovej príhody. Deje sa to z dôvodu, že pri inhibícií cyklooxygenázy zabraňuje kyselina acetylsalicylová okrem tvorby prostaglandínov aj tvorbe tromboxánu A₂, ktorý je zodpovedný za agregáciu trombocytov a tvorbu krvných zrazenín. (**Seshasai et al., 2012**)

Čo sa týka zmiernovania bolesti, kyselina acetylsalicylová je neúčinná pri bolestiach spôsobených kŕčmi, nadúvaní či žalúdočných bolestiach (**Gaciong, 2003**) a tiež by sa nemala využívať pri sekundárnych bolestiach hlavy, teda tých, ktoré sú spôsobené inými

poruchami alebo traumatickými úrazmi. Oproti tomu je odporúčaná na zmiernenie akútnych tenzných bolestí, či pri začínajúcich migrenózných bolestiach. **(Loder et al., 2008)** Čo sa týka práve migrén, je dokázané, že kyselina acetylsalicylová v správnych kombináciách s paracetamolom či kofeínom je prvou pomocou pri začínajúcich stavoch bolesti a môže znížiť riziko nástupu záchvatových bolestí. **(Bartleson et al., 2010)**

Hlavným problémom pri užívaní liekov s obsahom kyseliny acetylsalicylovej je, že u nich bolo preukázané zvýšené riziko gastrointestinálneho krvácania. **(García Rodríguez et al., 2011)** Príčinou tohoto javu je fakt, že stenu žalúdka chráni vzniknuté prostaglandíny pred vplyvom žalúdočnej kyseliny. Množstvo týchto prostaglandínov je po požití kyseliny acetylsalicylovej značne menšie, nakoľko dochádza k inhibícii COX-1 a COX-2 enzýmov. **(Rang et al., 2007)** Toto riziko je mnohonásobne vyššie pri súbežnom užití iných nesteroidných antiflogistík, ale aj liekov obsahujúcich warfarín a samozrejme pri požití alkoholu. **(Delaney et al., 2007)** A hoci priemerný spotrebiteľ by si toto riziko mal uvedomovať, prípadne by na to mal byť upozornený lekárnikom či informáciou v príbalovom letáku, nikde sa neuvádza možnosť interakcie s doplnkami výživy či dokonca s potravinami. Medzi problémové by mohli patriť extrakty z cesnaku, kurkuma, extrakty z borovicovej kôry, ginkgo, rybí tuk, víno s obsahom resveratrolu, sója, čaje a rôzne druhy ovocia s obsahom flavonoidu quercetínu a to z dôvodu, že majú podobný mechanizmus účinku vo vzťahu k prostaglandínom ako práve kyselina acetylsalicylová a tým by sa riziko krvácania mohlo zvýšiť. **(Fiorucci et al., 2003)** Vzhľadom k tomu, že všetky lieky s obsahom kyseliny acetylsalicylovej sú určené na orálne požitie, je stále väčšia snaha o výrobu kombinácie, ktorá by obsahovala zložku chrániacu sliznicu žalúdka. Medzi sporné, no naďalej používané, patrí použitie pufrovacích činidiel, napríklad oxidu horečnatého alebo uhličitanu vápenatého v antacidách. **(Dammann et al., 2004)**

Okrem gastrointestinálneho krvácania patrí medzi vedľajšie účinky užívania aj dočasné zvonenie v ušiach **(Guitton et al., 2003)**, opuch podkožného tkaniva (angioedém) **(Berges-Gimeno et al., 2004)**, mozgové mikrokrvácanie **(Gorelick, 2009)**, zvýšená hladina draslíka a v neposlednom rade riziko vzniku Reyovho syndrómu (u detí a mladistvých). **(Belay et al., 1999)** Menej často sa spomína otrava kyselinou acetylsalicylovou, čo môže byť spôsobené tým, že musíme rozoznávať otravu akútnu, ktorá je spôsobená jednorázovou vysokou dávkou kyseliny acetylsalicylovej a pri ktorej je úmrtnosť skutočne nízka; a otravu chronickú, obzvlášť závažnú pri detskej populácii, kedy sa po dlhšiu dobu požívajú množstvá vyššie ako odporúčané. **(Schrör, 2016)**

V slovenských lekárňach je dostupných niekoľko preparátov neviazaných na lekársky predpis obsahujúcich kyselinu acetylsalicylovú, z nich drvivá väčšina je klasifikovaná práve ako lieky na tíšenie bolesti, prípadne na zmiernenie a liečbu chrípkových stavov a stavov prechladnutia, pri ktorých sa však opäť spomína bolesť spôsobená týmito stavmi. Tieto lieky môžu ako účinnú látku obsahovať len kyselinu acetylsalicylovú alebo ju smú obsahovať aj v kombináciách s inými látkami s výnimkou psycholeptík, keďže, ako sme už spomínali, slovenská legislatíva nepovoľuje výdaj liekov s obsahom omamných alebo psychotropných látok bez lekárskeho predpisu. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012) (S-EPI, s. r. o., 2010)**

Medzi najznámejšie a zároveň najžiadanejšie preparáty tejto skupiny patria lieky s obchodným názvom Acylpyrin, Anopyrin, Aspirin, Acylcoffin, Acifein a Migralgin. Množstvo účinnej látky je spravidla 500mg v jednej dávke. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)** Stále najobľúbenejším ostáva Acylpyrin, pri ktorom sa počet predaných balení ročne sústavne pohybuje okolo 700 000 kusov. **(Národné centrum zdravotníckych informácií, 2011)**

1.3.2 Lieky na báze anilidov

Prvý derivát anilínu, u ktorého bolo preukázané, že má analgetické a antipyretické účinky, bol acetanilid [C_8H_9NO , *N-fenylacetamid* **(Favre, 2013)**]. Do lekárskej praxe sa dostal v roku 1886. Neskôr sa liečba acetanilidom stala neprijateľná z dôvodu závažných toxických účinkov na ľudský organizmus, predovšetkým šlo o zriedkavý typ cyanózy vyskytujúcej sa pri methemoglobinémii a terminálne poškodenie obličiek a pečene. **(Brodie et al., 1948)** Po niekoľkých rokoch, počas ktorých sa ako substituent acetanilidu pri liečbe používal jeho menej, avšak stále dosť toxický, derivát fenacetín **(Bertolini et al., 2006)**, sa zistilo, že acetanilid v tele človeka metabolizuje na paracetamol. Práve tento metabolit bol zodpovedný za analgetický a antipyretický účinok, ktorý sa pripisoval acetanilidu. **(Brodie et al., 1948)**

Paracetamol [$C_8H_9NO_2$, *N-(4-hydroxyfenyl)acetamid* **(Favre, 2013)**], známy tiež ako acetaminofén, sa prvýkrát klinicky otestoval na pacientoch v roku 1887. Ako aktívny metabolit acetanilidu aj fenacetínu vykazoval paracetamol analgetické a antipyretické účinky, pre ktoré bol dovtedy v obľube fenacetín, čo potvrdila správa s klinickými výsledkami v roku 1893. Taktiež potvrdila aj to, že oproti dvom spomínaným predchodcom má paracetamol len nepatrné tendencie vyvolávať methemoglobinémiu. **(Bertolini et al.,**

2006) Bez lekárskeho predpisu sa paracetamol začal predávať až v roku 1959 a aj napriek kontroverzným obvineniam, ktoré súviseli s úmrtím z predávkovania, ostáva v predaji bez obmedzení aj naďalej. **(Gerth, 2013)**

Paracetamol sa pripravuje niekoľkými spôsobmi. Pôvodná metóda začína nitráciou fenolu dusičnanom sodným, ktorá vytvorí zmes dvoch izomérov. Požadovaný 4-nitrofenol sa zo zmesi následne oddelí destiláciou vodnou parou. Prebehne redukcia nitroskupiny na aminoskupinu a celá reakcia sa zakončí acetyláciou acetanhydridom. **(Ellis, 2002)** Inou, alternatívnou metódou je priama acylácia fenolu s anhydridom kyseliny octovej katalyzovaná fluorovodíkom. Vzniknutý ketón je hydroxylamínom konvertovaný na ketoxím a na záver dochádza v kyslom prostredí k jeho prešmyku na amid. Najnovšiou metódou prípravy je však priama syntéza z hydrochinónu, kde sa zo zmesi hydrochinónu, octanu amónneho a kyseliny octovej v argónovej atmosfére pri teplote 230°C vytvára zrazenina, z ktorej sa premývaním a sušením získa paracetamol. **(Joncour et al., 2014)**

Účinky liekov na báze paracetamolu sú opäť hlavne analgetické a antipyretické, menej protizápalové. Ich použitie je obmedzené na liečbu miernej až stredne silnej bolesti, hlavne pri bolestiach kĺbov, krížov **(Hochberg et al., 2012)**, zubov a opäť v kombinácií s kofeínom je účinok značne vyšší a využívaný pri bolestiach hlavy, začínajúcej migréne a popôrodných bolestiach. **(Haag et al., 2011)** Antipyretický účinok sa osvedčil pri deťoch, najmä pri zmiernení teplôt neprekračujúcich 38,5°C. Vyššie dávky sa pri detskej populácii neodporúčajú. **(Meremikwu et al., 2002)** Kombinácie s paracetamolom sa teda vďaka svojim účinkom využívajú hlavne pri zmiernení chrípkových stavov, z čoho vyplýva aj nasledujúci problém s jeho nadužívaním.

Najväčším problémom paracetamolu je jeho hepatotoxicita, nakoľko jeho metabolizmus prebieha v pečeni. Pri dospelých zdravých jedincoch je preukázateľná nízka toxicita pri pravidelnej konzumácii 4000 mg denne **(U.S. Food and Drug Administration, 2011-2014)**, čo predstavuje asi 8 tabletiiek bežného Paralenu. Pri bežnom spotrebiteľovi je problémová najmä samoliečba chrípkových stavov, kedy si pacient neuvedomuje, že paracetamol konzumuje priamo v tabletkovej forme, ale aj ako kombináciu s inými látkami vo forme nápoja (Coldrex, Theraflu), ktorým neuvážene nahrádza pitný režim. Takýto pacienti majú abnormálne výsledky pečeňových testov. Aj preto je snaha o zníženie množstva paracetamolu v liekoch neviazaných na lekársky predpis z pôvodných 500mg na 325mg. Pri akútnom predávkovaní paracetamolom je však už možné smrteľné poškodenie

pečene. Zvýšenie toxicity paracetamolu spôsobuje aj konzumácia alkoholu, rekreačné užívanie opiátov, ale aj užívanie liekov obsahujúcich psychotropné látky. Nadužívanie hepatotoxického paracetamolu je najčastejšou príčinou zlyhania pečene v západných krajinách Európy a USA. **(U.S. Food and Drug Administration, 2011-2014)**

Okrem toxického účinku na pečeň je tu stále riziko krvácania do gastrointestinálneho traktu, ale hlavne pri kombináciách s inými liekmi. **(García Rodríguez et al., 2011)** Je však lepšie znášateľný ako kyselina acetylsalicylová a čo sa týka detskej populácie, jednoznačne preferovanejší, čo odzrkadľuje aj ponuka liekov na báze paracetamolu určená pre liečbu detí. Ďalšie varovanie sa venuje kožným reakciám, ktoré pri chronickom predávkovaní môžu byť až fatálne. Ide hlavne o epidermálnu nekrolýzu a jej vážnejší prejav vo forme Stevens-Johnsonovho syndrómu. **(Meyler, 2000)** Pri týchto poškodeniach sa oddeľuje pokožka od zvyšku kože, čo umožňuje rýchlejšie prenikanie prípadných infekcií, sepsu alebo omnoho vážnejšie poškodenia, pokiaľ choroba napadne sliznice. **(Rehmus, 2013)**

Ako sme už spomínali, lieky s obsahom paracetamolu a jeho kombinácie (na slovenskom trhu ide opäť o kombinácie s výnimkou psycholeptík) sú vyhľadávané hlavne pri zmierňovaní chrípkových stavov a stavov sprevádzajúcich prechladnutie, ale aj pre už spomínané bolesti zubov a chrbta. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

Ponuka lekární je pri liekoch s obsahom paracetamolu jednoznačne pestrejšia ako pri kyseline acetylsalicylovej a to nie len pri množstve účinnej látky, ale najmä pri liekovej forme. Medzi dostupné a vyhľadávané patria Ataralgin, Daleron, Doluxio, Grippostad, Maxflu, Nogrip, Paracut, Paramax, Trinell, ale najmä Paralen, Medipyrin, Coldrex, Panadol, Theraflu a Valetol. Množstvo paracetamolu v jednotlivých preparátoch je u väčšiny 500mg; pri kombinácií s kofeínom alebo inými liečivami klesá toto množstvo na 325mg a pri liekoch pre deti až na 125mg. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

Paralen sa každoročne umiestňuje na vrchole rebríčka TOP 50 najpredávanejších liekov bez lekárskeho predpisu a okrem neho je u spotrebiteľov obľúbený aj Panadol alebo Theraflu. Počet predaných krabičiek spomínaných liekov každoročne dosahuje 4 milióny. **(Národné centrum zdravotníckych informácií, 2011)**

1.3.3 Lieky na báze ibuprofénu

Ibuprofén [$C_{13}H_{18}O_2$, kyselina (RS)-2-(4-(2-metylpropyl)fenyl)propánová **(Favre, 2013)**] bol odvodený od kyseliny propiónovej v roku 1960 ako výsledok hľadania

bezpečnejšej alternatívy k liekom na báze kyseliny acetylsalicylovej. **(Adams, 1992)** Spočiatku sa liek testoval pre jeho účinky zmierniť stavy po opitosti a neskôr sa využíval na liečbu reumatoidnej artritídy. V roku 1984 sa začal predávať bez lekárskeho predpisu a v západných krajinách a USA dokonca aj v predajniach s potravinami a maloobchodných predajniach. **(Halford et al., 2012)**

Zdrojovou molekulou pre komerčnú syntézu ibuprofenu je vo väčšine prípadov izobutylbenzén a hoci existuje viacero metód syntézy, prakticky sa využívajú dve. Obe sú založené na Friedel-Craftsovej acylácií, avšak prvá z nich (pôvodná) prebieha až v šiestich krokoch. V rámci ekologického šetrenia sa preto začala využívať druhá metóda, pri ktorej sa za použitia katalyzátorov syntéza skrúti len na tri kroky. **(Rang et al., 2007)** Výsledkom týchto syntéz je však ibuprofén vo forme racemátu – zmes dvoch opticky aktívnych foriem a to (*R*)-ibuprofén a (*S*)-ibuprofén. Oba tieto enantioméry majú iné predpoklady na biologické účinky, avšak medicínsky významným a využívaným je práve (*S*)-ibuprofén. A hoci izomerázy v tenkom čreve a pečeni sú schopné premeniť (*R*)-ibuprofén na (*S*)-ibuprofén a teda sumárne celých 100% prijatého ibuprofenu sa nakoniec aktívne prejaví; existuje predpoklad, že ak by organizmus prijal len aktívnu (*S*)-formu, zmiernilo by to negatívne účinky lieku alebo by sa mohla zregulovať jeho dávka. **(Reichel et al., 1997)**

Ibuprofén je vyhľadávaný hlavne pre jeho analgetické účinky, nakoľko je účinný pri miernej až stredne silnej bolesti, špeciálne pri bolestivej menštruácii, bolestiach zubov, hlavy, kĺbov a dokonca pri bolesti sprevádzajúcej obličkové kamene. **(AHFS DI Essentials, 2016)** Tiež sa používa pri zmiernení horúčky, avšak tu medzi spotrebiteľmi stále vedie paracetamol. Ibuprofén sa viac ako iné nesteroidné antiflogistiká používa pri liečbe rôznych artritíd, inak sú jeho protizápalové účinky nižšie ako u ostatných preparátov z rovnakej skupiny. Pre svoju vyššiu znášateľnosť a nižšie nežiaduce účinky oproti paracetamolu je schválený aj ako liek na PDA (*Patient ductus arteriosus*); stav novorodenca, pri ktorom nedošlo k uzatvoreniu prechodu medzi aortou a pľúcnicou a spôsobuje nepravidelný prenos krvi a cyanózu. **(Fanos et al., 2010) (Halford et al., 2012)**

Ako iné nesteroidné antiflogistiká aj ibuprofén inhibuje tvorbu prostaglandínov a tým zvyšuje pravdepodobnosť krvácania do gastrointestinálneho traktu a to najmä pri kombinácií s alkoholom, alebo s inými nesteroidnými antiflogistikami (špeciálne rizikové je užívanie s liekmi na báze kyseliny acetylsalicylovej). **(García Rodríguez et al., 2011)** Medzi ďalšie nežiaduce účinky súvisiace s trávením patrí pálenie záhy, nevoľnosť, dyspepsia,

hnačka alebo naopak zápcha. **(Castellsague et al., 2012)** Menované sú tiež ďalšie nežiaduce účinky, medzi inými zadržiavanie tekutín a solí, hyperkaliémiu (zvýšenie hladiny draslíka v krvi), zvyšovanie krvného tlaku a s ním spojené srdcové zlyhanie či infarkt myokardu pri častých vyšších dávkach. Taktiež pôsobí ako antagonistka kyseliny acetylsalicylovej, pokiaľ ide o jej užitie pri prevencii mozgovej mŕtvice alebo ochranu srdca po prekonaní infarktu myokardu. **(Forman et al., 2005) (U.S. Food and Drug Administration, 2015)**

Ako pri paracetamole, aj pri ibuprofene existuje riziko vzniku toxickej epidermálnej nekrolýzy a jej vzácnej autoimunitnej formy Stevens-Johnsonovho syndrómu. Nemenej závažný je výskyt bulózneho pemfigoidu najmä u starších osôb. Toto autoimunitné ochorenie sa vyznačuje veľkými vodnatými pľuzgiermi na pokožke. **(Meyler, 2000)**

Nakoľko metabolizmus ibuprofenu prebieha v pečeni, opäť môžeme hovoriť o riziku jej zlyhania, avšak u priemerného človeka sa toxické množstvo ibuprofenu pohybuje niekde okolo 400mg/kg ľudskej hmotnosti. **(Rainsford, 2012)** V praxi si toto množstvo dokážeme predstaviť, ak by jedinec skonzumoval presne toľko tabletiiek, koľko sám váži (predpokladáme tu, že ide o tablety Ibalginu s obsahom 400mg ibuprofenu, ktoré sú na Slovensku najčastejšie preferovaným preparátom na tejto báze). **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

V slovenských lekárňach sa stretávame s liekmi obsahujúcimi výlučne ibuprofen, alebo obsahujúcimi jeho kombináciu s inými liečivami, predávanými pod obchodnými názvami Modafen, Robicold, Panactiv, Advil, Brufedol, Ibutabs, MIG a najznámejší Ibalgin, Brufen či Nurofen. Spomínané lieky obsahujú väčšinou 400mg ibuprofenu v jednej dávke, ale nájdu sa aj lieky s obsahom 200mg alebo preparáty určené pre deti, kde je množstvo ibuprofenu v 1ml len 20mg. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)** Lieky s obsahom ibuprofenu nemajú až takú popularitu ako lieky s obsahom paracetamolu, ale priemerné množstvo 2,5 milióna predaných krabičiek ročne je stále dôkazom, že ikonická „ružová tabletká“ má svoje stabilné miesto v slovenských domácnostiach. **(Národné centrum zdravotníckych informácií, 2011)**

Okrem preparátov určených na orálne požitie sa pri liekoch s obsahom ibuprofenu stretávame aj s inými liekovými formami, napríklad géľmi a krémami Dolgit a Ibalgin. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

1.3.4 Lieky na báze naproxénu

Naproxén [$C_{14}H_{14}O_3$, *kyselina (+)-(S)-2-(6-metoxynaftalén-2-yl)propánová* (**Favre, 2013**)] je v mnohom podobný ibuprofénu (tiež ide o derivát kyseliny propiónovej) a ako liek neviazaný na lekárske predpis je na trhu pomerne nový. Prvýkrát bol síce na západný trh uvedený už v roku 1976, avšak išlo o liek striktne viazaný na predpis, čo sa vo väčšine krajín nezmenilo. Najznámejší preparát, ktorého predaj slovenská legislatíva povoľuje aj bez lekárskeho predpisu, bol registrovaný v roku 2010 a intenzívne propagovaný až v posledných mesiacoch. Mimo samotného naproxénu sa používa aj jeho sodná soľ. (**ŠUKL, 2017**) (**Harrington et al., 1997**)

Syntéza čistej a účinnej formy naproxénu ((*S*)-naproxén) si v priebehu času prešla mnohými zlepšeniami. Pri prvých syntézach na princípe Friedel-Craftsovej acylácie sa nepodarilo vytvoriť produkt obsahujúci len účinný izomér naproxénu (rovaký problém ako pri syntéze ibuprofénu) a navyše pri nej vznikalo mnoho vedľajších produktov, ktoré sa z hľadiska degradácie považovali za ekologicky zaťažujúce. Pri prvom vylepšovaní reakcie sa síce výťažnosť zvýšila (na 50-60%), avšak zaťažovanie životného prostredia sa opäť nepodarilo riešiť. Až od roku 1993 sa naproxén vyrába spoľahlivou modernou metódou, pri ktorej môžeme hovoriť o výťažnosti viac ako 90% a 98% vedľajších produktov sa využíva opakovaním, čím sa nezaťažuje životné prostredie. (**Harrington et al., 1997**)

Ako sme už spomínali, naproxén sa pomyselné nachádza v rovnakej skupine ako ibuprofén. Ide teda o neselektívny inhibítor cyklooxygenázy. Je teda vyhľadávaný pre jeho schopnosť zmiernovať bolesti (najmä ide o rôzne druhy artritíd, ale tiež migrenózne bolesti, menštruačné bolesti alebo bolesti sprevádzajúce prítomnosť obličkových kameňov. Tiež ide o vyhľadávaný liek na zmiernenie horúčky, či už infekčného pôvodu alebo sprevádzajúcej nádorové ochorenia. (**Zell et al., 2005**) Naproxén sa vďaka pomeru svojich pozitívnych a negatívnych účinkov stal liekom na odvykanie pre pacientov užívajúcich prísne kontrolované lieky proti bolesti. (**Rang et al., 2007**)

Opäť, ako u všetkých už spomínaných nesteroidných antiflogistík, aj pri naproxéne sa stretávame s nežiadúcimi vedľajšími účinkami na gastrointestinálny a kardiovaskulárny systém. Liek sa neodporúča pacientom s výskytom žalúdočných vredov, nakoľko pri jeho užívaní sa riziko vzniku gastrointestinálneho krvácania považuje za vyššie ako u iných nesteroidných antiflogistík predávaných bez lekárskeho predpisu. Liek by sa mal užívať vždy s jedlom a pri dlhodobej liečbe sa odporúča jeho kombinované užívanie s inhibítormi

protónovej pumpy, ktoré znižujú tvorbu žalúdočnej kyseliny. **(Castellsague et al., 2012)** Oproti tomu sa však s užívaním naproxénu spája najmenšie riziko výskytu závažných kardiovaskulárnych stavov, ako je infarkt myokardu alebo mozgová mŕtvica – ide asi o polovicu nižšie riziko ako pri užívaní ibuprofenu. **(Nissen et al., 2016)** Medzi iné nežiaduce účinky sa taktiež zaraďujú iné zažívacie ťažkosti (pálenie záhy, zápcha, hnačka), ospalosť, podráždenia pokožky, vznik modrín a v neposlednom rade ide o nežiaduce znižovanie účinku liekov na liečbu duševných a psychických porúch. **(Rang et al., 2007)** **(Warner-Schmidt et al., 2011)**

Spoločným rizikom pre lieky na báze ibuprofenu a naproxénu je vplyv na tehotenstvo. Hoci sa nepreukázal negatívny vplyv pri užívaní na začiatku tehotenstva, užívanie vo vyššom štádiu tehotenstva zvyšuje riziko nechceného potratu plodu a to viac ako dvojnásobne. Množstvo užitého lieku pritom vôbec nebolo dôležité. **(Daniel et al., 2014)**

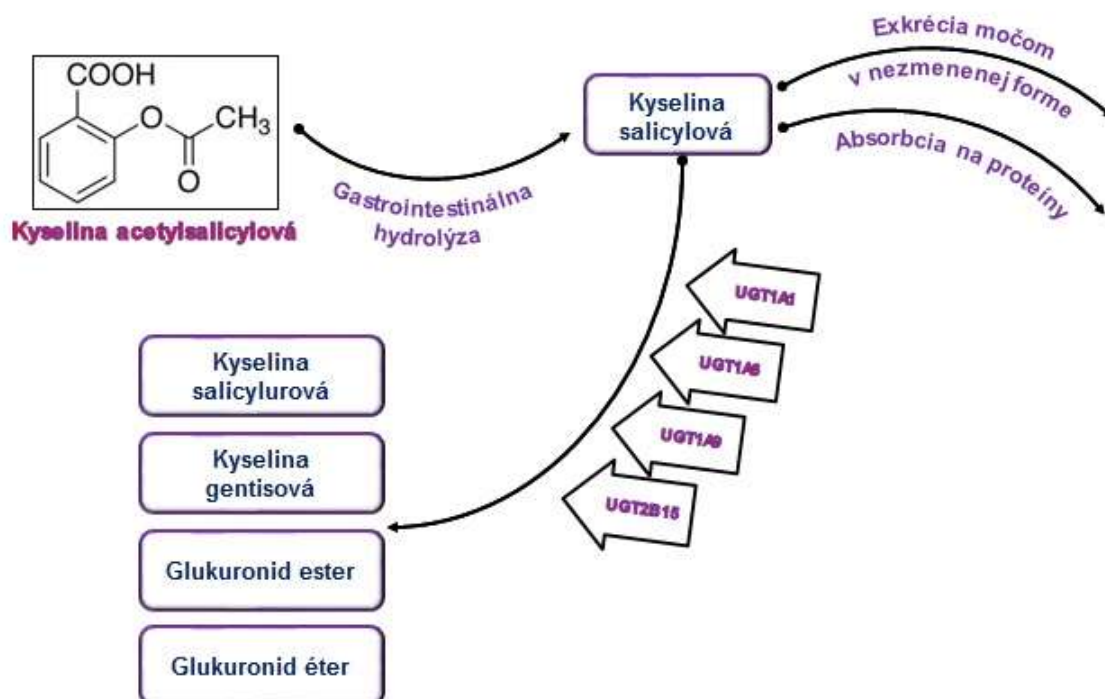
Vzhľadom, že lieky s obsahom naproxénu sú na Slovensku ešte málo propagované a známe, medzi prípravkami dostupnými bez lekárskeho predpisu nájdeme len Etrixenal, Nalgesin S a gél Emoxen. **(PharmINFO spol. s r.o., 2012)**

1.4 Metabolizmus a biotransformácia

Nesteroidné antiflogistiká sú zväčšej časti slabé kyseliny, ktorých pKa sa pohybuje v rozmedzí 3 až 5. Pri orálnom požití sú veľmi dobre absorbované v gastrointestinálnom trakte organizmu – hlavne cez sliznicu žalúdka a tenkého čreva. Kyselina acetylsalicylová je v žalúdku len málo ionizovaná a v kyslom pH sa veľmi rýchlo vstrebáva. Vyššie pH v tenkom čreve a tiež jeho zväčšený povrch spôsobuje, že v ňom sa naopak kyselina acetylsalicylová absorbuje pomalšie, keďže tu dochádza k jej ionizácii omnoho viac. Pri predávkovaní je tendencia organizmu tvoriť konkrementy (útvary v žlčovode, močovom mechúri alebo obličkách; laicky nazývané aj „kamene“) a preto sa absorpcia kyseliny acetylsalicylovej znižuje a nárast koncentrácie v krvnej plazme je pozorovaný až po 24 hodinách od požitia. **(Rang et al., 2007)** Absorpcia paracetamolu cez žalúdočnú stenu je zanedbateľná, ale aj tak je jeho distribúcia veľmi rýchla a ide skoro o 100% prijatej dávky, zatiaľ čo množstvo absorbovanej dávky ibuprofenu je 80%. Pri naproxéne ide o absorpciu až 95% dávky a distribúcia prebieha rýchlo, avšak stále pomalšie ako distribúcia jeho sodnej soli. Mierne spomaľujúcim faktorom distribúcie nesteroidných antiflogistík je súčasná konzumácia potravín spolu s požitím lieku. **(Wishart et al., 2006)**

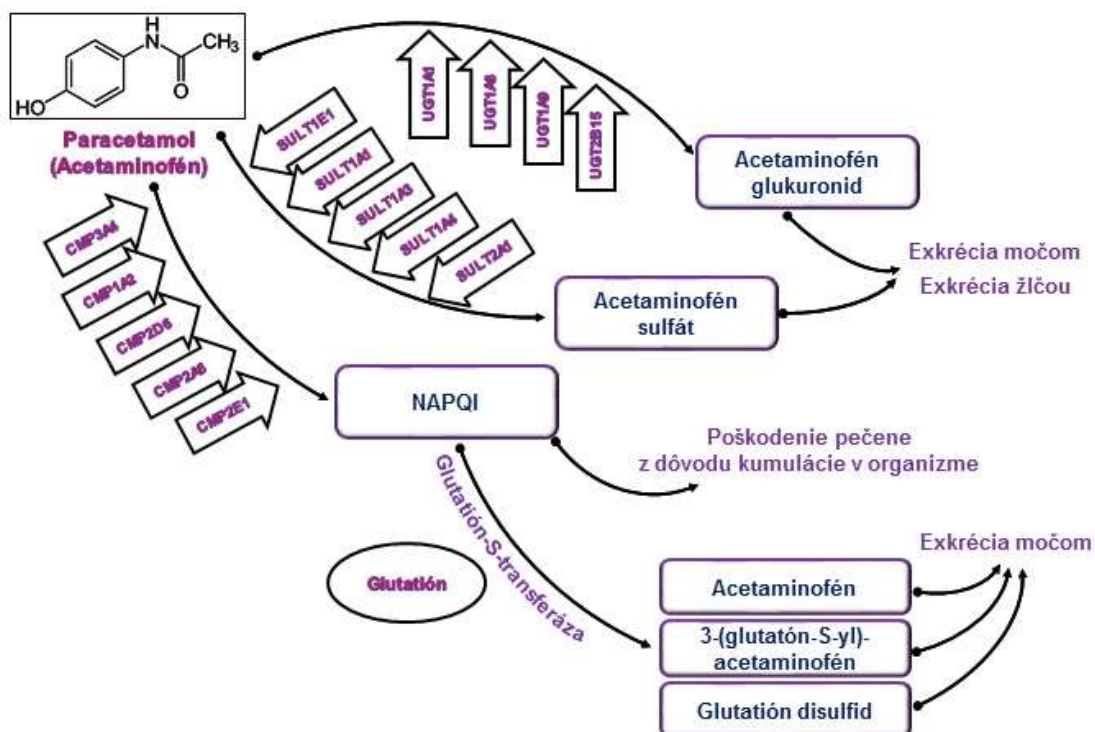
Po absorpcii sa nesteroidné antiflogistiká viažu na plazmové proteíny, zvyčajne na albumín, čím sa ich distribučný objem priblíži objemu plazmy. Väzbovosť proteínu je závislá od koncentrácie liečiva v krvnej plazme. Pokiaľ je koncentrácia vysoká, väzobné miesta na proteíne sa zaplnia a v plazme ostáva väčšie množstvo nenviazaného liečiva, čo vedie k toxickému účinku na organizmus. (Rang et al., 2007) Pri kyseline acetylsalicylovej ide asi o 50-80% prijatého množstva, zvyšok ostáva v aktívnom ionizovanom stave. (Burton, 2006)

Ako možno aj z vedľajších účinkov usúdiť, nesteroidné antiflogistiká metabolizujú hlavne v pečeni a to pri procese oxidácie a konjugácie na neaktívne metabolity, ktoré sa vylučujú močom (niektoré lieky sa čiastočne môžu vylučovať do žlče). (Rang et al., 2007) Pri kyseline acetylsalicylovej (Obrázok 2) ide o konjugáciu s glycinom a kyselinou glukorónovou a tvorbu menej toxických glukoronidov. Enzýmy pôsobiace v tejto pečenej metabolickej dráhe sú predovšetkým UGT1A1, UGT1A6, UGT1A9 a UGT2B15. Táto metabolická dráha má obmedzenú kapacitu, preto malé prebytočné množstvá kyseliny acetylsalicylovej sú hydrolyzované na kyselinu gentisovú a pri väčších dávkach sa metabolizmus „prepne“ z prvého na nultý stupeň a zvyšky kyseliny acetylsalicylovej sú vylučované priamo obličkami. (Wishart et al., 2006)



Obrázok 2: Schéma biotransformácie kyseliny acetylsalicylovej

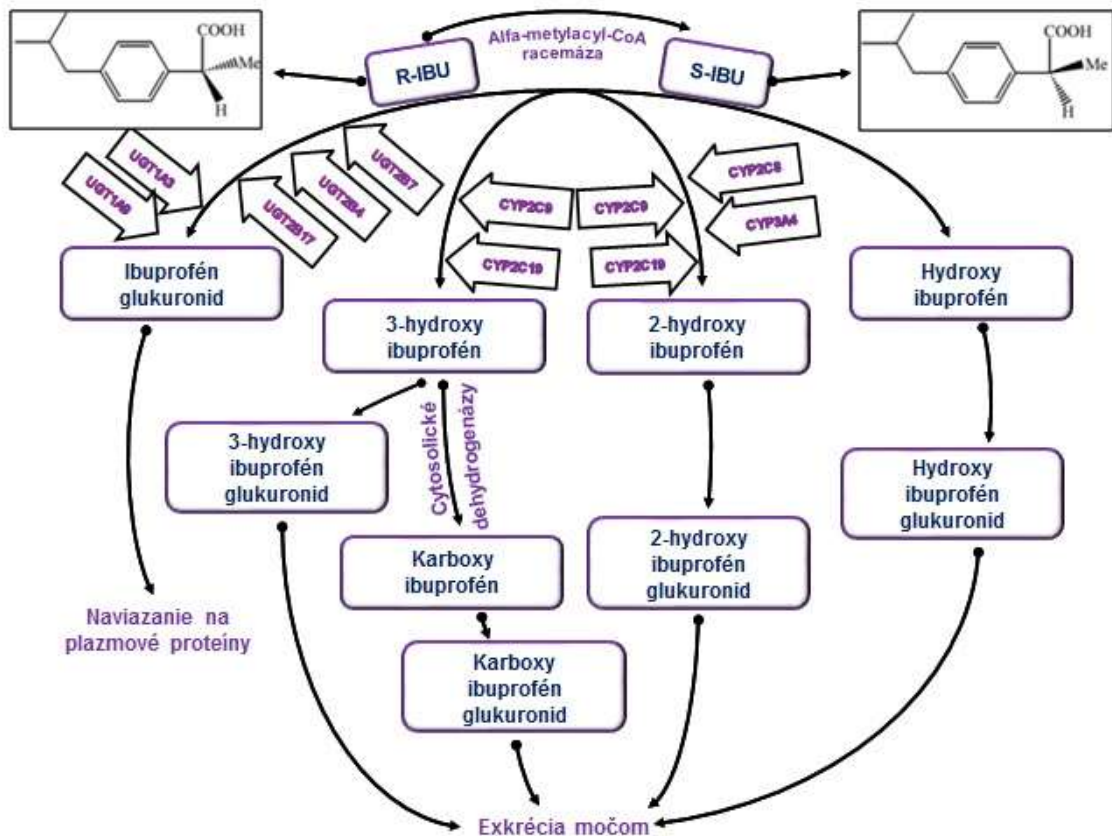
Rovnakou metabolickou dráhou metabolizuje aj paracetamol (**Obrázok 3**), avšak len približne 50% z jeho prijatého množstva. Zvyšné množstvo metabolizuje pri procese sulfatácie (20-30%) enzýmami SULT1A1, SULT1A3, SULT1A4, SULT1E1 a SULT2A1; a v procese N-hydroxylácie, dehydratácie a konjugácie na glutatión (15%). V tretej dráhe pečňový enzýmový systém cytochróm P450 (hlavne CYP2E1 enzým, ale aj jeho izoenzým CYP3A4) metabolizuje paracetamol na metabolit NAPQI (*N*-acetyl-*p*-benzochinón imín), ktorý je finálne konjugovaný s glutatiómom. (**Wishart et al., 2006**) Avšak, hoci konečné produkty všetkých troch dráh metabolizmu paracetamolu sú netoxické a vylučujú sa obličkami, medziprodukt NAPQI je pred jeho konjugáciou toxický a pripisuje sa mu práve vysoká hepatotoxicita paracetamolu. (**Whirl-Carrillo et al., 2012**) (**Burton, 2006**)



Obrázok 3: Schéma biotransformácie paracetamolu

Cytochróm P450 metabolizuje v pečeni aj ibuprofén (**Obrázok 4**) oxidačnou formou na hydroxy a karboxy metabolity, ktoré nemajú ďalší farmaceutický účinok. Metabolizované množstvo ibuprofenu je spravidla skoro 100% prijatej dávky a v moči sú detekované buď žiadne alebo zanedbateľne malé množstvá nezmeneného liečiva. Metabolické dráhy sú však odlišné. Keďže ibuprofén je prijímaný vo forme racemátu, v primárnej metabolickej dráhe sú jeho enantioméry metabolizované rozličnými enzýmami – (*R*)-ibuprofén enzýmom CYP2C8 a (*S*)-ibuprofén pomocou CYP2C9. (**Rang et al., 2007**)

V prípade vysokých dávok môže byť ibuprofén metabolizovaný aj pomocou enzýmov CYP3A4, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 a CYP2B6. (Wishart et al., 2006) V sekundárnej metabolickej dráhe je racemický ibuprofén metabolizovaný hlavne enzýmom UGT2B7 na ibuprofén-glukuronid, ktorý môže byť toxický hlavne u starších pacientov. (Whirl-Carrillo et al., 2012)

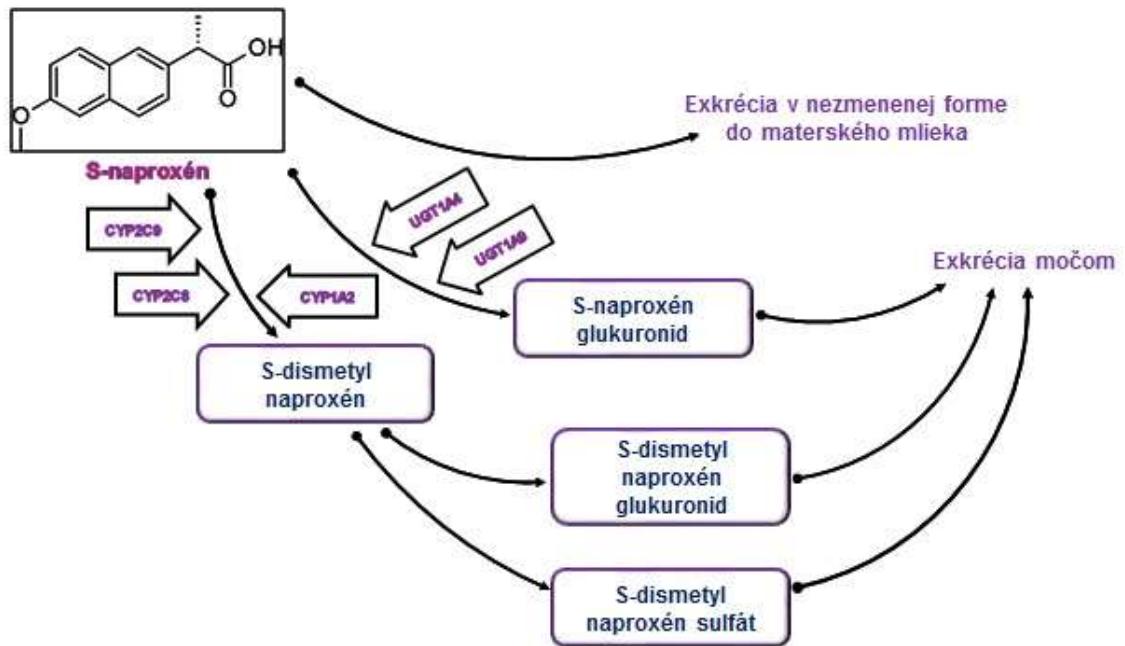


Obrázok 4: Schéma biotransformácie ibuprofenu

Keďže naproxén je veľmi príbuzný ibuprofenu, v jeho metabolickej dráhe (Obrázok 5) ide taktiež prioritne o súčinnosť enzýmov CYP2C9 a CYP2C8 a pri vysokých dávkach sa záložne zapája enzým CYP1A2. Malé množstvá nezmetabolizovaného naproxénu sa vylučujú do materského mlieka, čo je pri spomínanom zvýšenom riziku potratu nedonoseného plodu ďalším dôvodom, prečo by ho nemali užívať tehotné (a teda aj dojčiace) ženy. (Daniel et al., 2014) (Wishart et al., 2006)

Pri chorobných stavoch organizmu, tiež pri akumulácií (spôsobenej aj bežným dávkovaním), ale aj počas tehotenstva, môže dochádzať k rôznym abnormalitám metabolizmu. Jedným z najbežnejších prípadov je acidóza, príčinou ktorej dochádza

k zvýšenej penetrácii gastrointestinálnych tkanív a tým k zvýšenej distribúcií nesteroidných antiflogistík. (Rang et al., 2007)



Obrázok 5: Schéma biotransformácie naproxénu

Polčas rozpadu týchto liekov je rôzny, nakoľko ide o veľkú skupinu liekov. Pri bežných terapeutických dávkach (berieme do úvahy množstvo liečiva v najpreferovanejších preparátoch na Slovensku) kyseliny acetylsalicylovej ide o približne 3 hodiny, pri paracetamole a ibuprofene o neurčitú dobu 1-4 hodiny a pri naproxéne až o dobu 15 hodín. (PharmINFO spol. s r.o., 2012) (Wishart et al., 2006)

2. CIELE PRÁCE

1. Posúdenie miery rizika príjmu xenobiologických látok – liečiv kyseliny acetylsalicylovej, paracetamolu, ibuprofenu a naproxenu, ktoré sa používajú na výrobu najpredávanejších liekov na zmiernenie bolesti a ktorých predaj nie je na Slovensku viazaný na lekársky predpis.
2. Analyzovanie bodových mutácií vyskytujúcich sa v európskej populácii, ktoré ovplyvňujú odbúravanie týchto liečiv v ľudskom organizme a na základe tejto analýzy vytvoriť spoľahlivý postup pre hodnotenie rizika u jednotlivcov.
3. Vypracovanie genetického profilu pre 44 jedincov, zhodnotenie miery rizika jednotlivca a uvedenie odporúčaných liečiv na utlmenie bolesti pre najrizikovejších jednotlivcov.

3. METODIKA PRÁCE

Vzhľadom k náročnosti analýzy rizika v oblasti farmakológie a genetiky, prebehla nasledovná analýza *in silico* (analýza vykonávaná pomocou počítačových metód a simulácií). Celá analýza prebiehala v spolupráci so spoločnosťou Nu3gen s.r.o., ktorá za účelom tejto práce poskytla údaje z genetického čipu *Illumina Omni Express-24*.

Analýza miery rizika príjmu voľnopredajných nesteroidných antiflogistík bola vykonávaná:

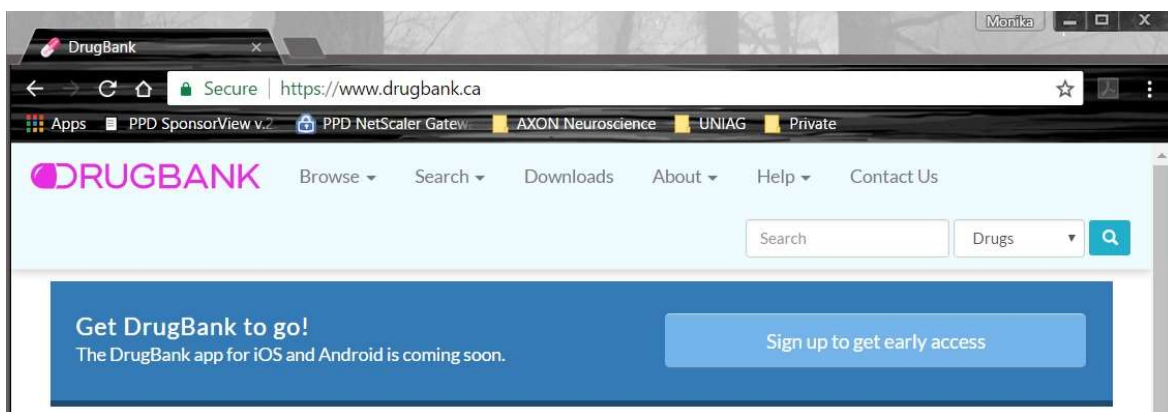
1. Pre celú európsku populáciu, ktorá má svoje konkrétne genetické špecifiká. Analýza pokryla celú európsku populáciu.
2. Na 44 anonymných dobrovoľníkoch zo Slovenskej republiky, ktorý poskytli svoj genetický materiál pre genómovú analýzu spoločnosti Nu3gen s.r.o.

Informácie o možných bodových mutáciách, ktoré súvisia s bezpečnosťou príjmu voľnopredajných nesteroidných antiflogistík, boli vyhľadávané cez internetové databázy na stránkach <https://www.snpedia.com/> (Obrázok 6) a <https://www.drugbank.ca/> (Obrázok 7).



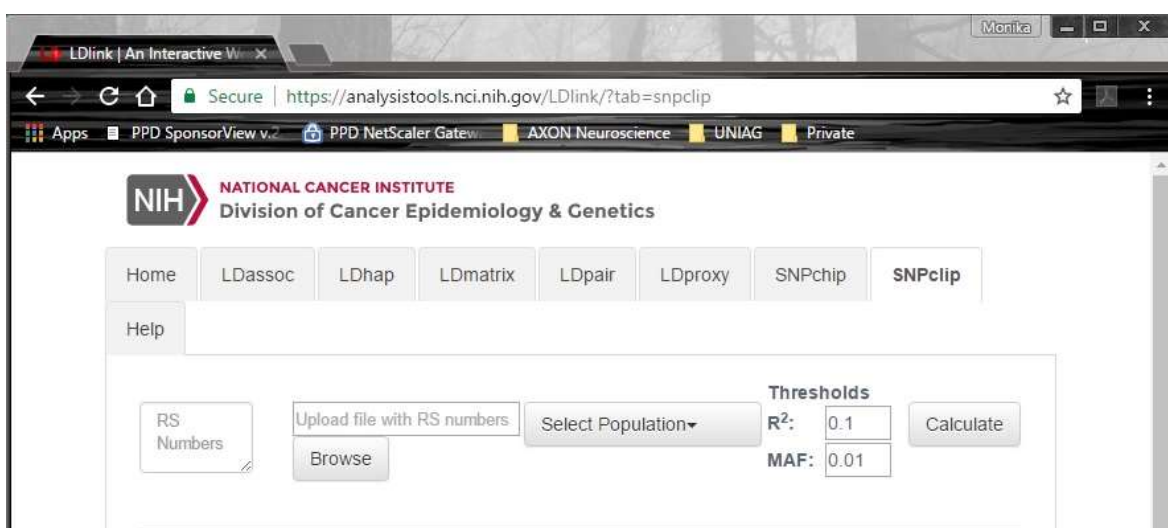
Obrázok 6: Náhľad na webovú stránku SNPedia

Cez stránku DrugBank boli mutácie vyhľadávané priamo v informáciách uvádzaných ku konkrétnym liečivám v častiach „*SNP Mediated Effects*“ a „*SNP Mediated Adverse Drug Reactions*“, zatiaľ čo na stránke SNPedia sa vyhľadávali špecifické mutácie súvisiace priamo s enzýmami, ktoré vstupujú do metabolizmu týchto liečiv v ľudskom organizme alebo pomocou kľúčových slov špecifických pre tieto metabolizmy.



Obrázok 7: Náhl'ad na webovú stránku DrugBank

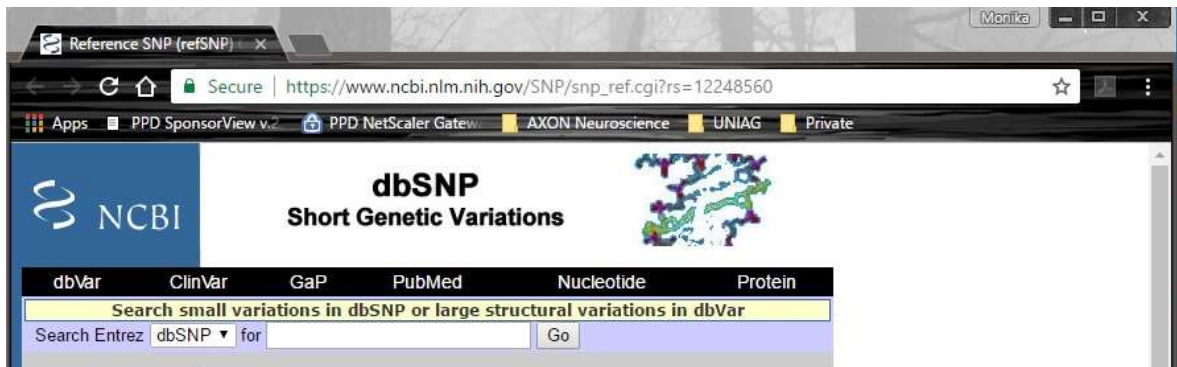
Vyhľadané bodové mutácie boli rozdelené podľa liečiv, k metabolizmom ktorých sa viažu. Niektoré vybrané mutácie sa viažu k viac ako jednému metabolizmu, nakoľko biotransformácia väčšiny xenobiotík prebieha v ľudskom organizme pomocou série enzýmov cytochrómu P-450. (Knejzlík et al., 1999) Následne na to sa pomocou webovej aplikácie <https://analysistools.nci.nih.gov/LDlink/> (Obrázok 8) vyhľadali genetické varianty, ktoré môžu vznikáť s prítomnosťou daných mutácií. Po zadaní čísla danej bodovej mutácie a selekcií populácie, pre ktorú informácie potrebujeme zistiť, ako výstup dostávame dve varianty alel s ich percentuálnym výskytom v danej populácii.



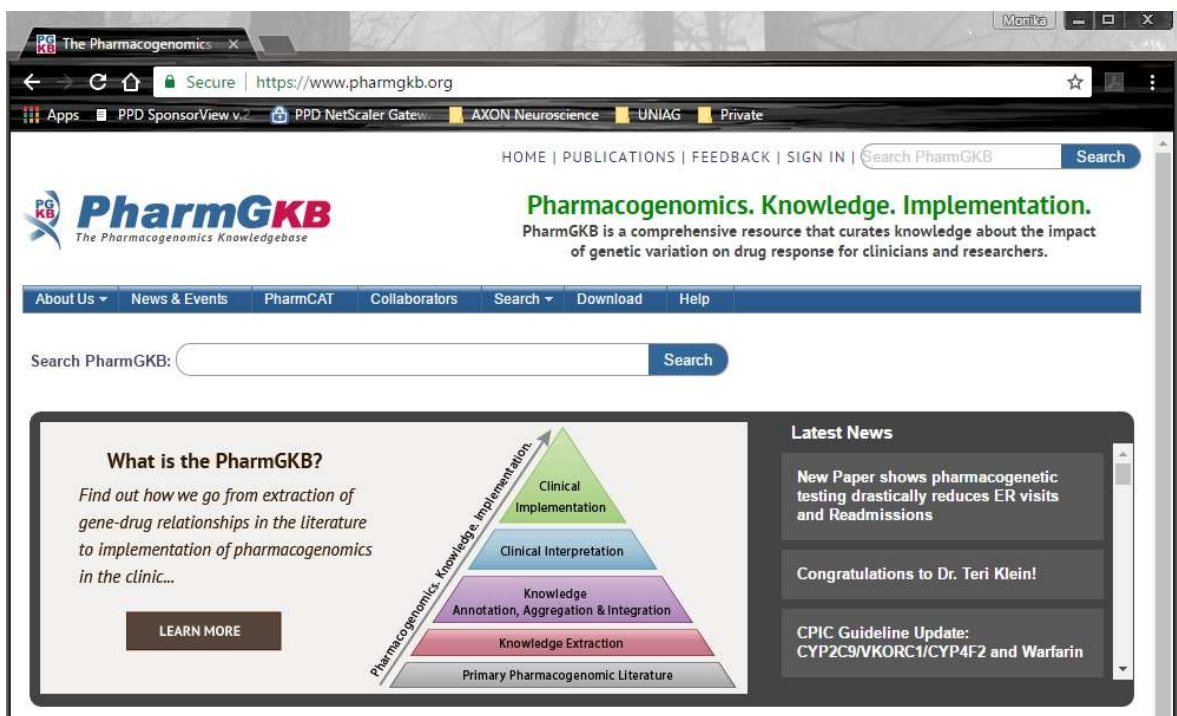
Obrázok 8: Náhl'ad na webovú aplikáciu LDlink

Pre hodnotenie miery rizika príjmu nestereoidných antiflogistík sa daným bodovým mutáciám pre konkrétne liečivá priradilo genetické skóre, na základe ktorého bolo možné vyhodnotiť, aké vážne riziko predstavuje prítomnosť danej mutácie pre jej nositeľa. Skóre bolo udeľované na základe informácií o závažnosti, ktorá bola hodnotená buď štatistickým údajom „Odds Ratio“ uvedeným pri daných mutáciách na stránke <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/> (Obrázok 9), alebo na základe odborných článkov a

štúdií, na ktoré sa odkazuje už horespomínaná stránka <https://www.snpedia.com/> pri jednotlivých opisoch mutácií a tiež stránka <https://www.pharmgkb.org/> (Obrázok 10) pri opisoch metabolizmov.



Obrázok 9: Náhľad na webovú stránku dbSNP



Obrázok 10: Náhľad na webovú stránku PharmGKB

Stupnica pre udeľovanie jednotlivého genetického skóre bola nasledovná:

- „0“ – ak nositeľstvo daných alel nepredstavovalo pre nositeľa žiadne riziko
- „1“ – ak nositeľstvo daných alel predstavovalo pre nositeľa len mierne riziko
- „2“ – ak nositeľstvo daných alel predstavovalo pre nositeľa stredne vysoké až vysoké riziko

Pokiaľ prítomná mutácia predstavovala pre nositeľa akékoľvek zvýhodnenie, stupnica pre bodové hodnotenie bola otočená a teda najviac zvýhodnenému nositeľovi bola

pridelená „0“ a najmenej zvýhodnenému hodnota „2“, napriek tomu, že ani jedna varianta pri danej mutácii pre neho nepredstavovala žiadne riziko.

Pre každú bodovú mutáciu teda existujú tri možnosti hodnôt, ktoré môžu byť danému jedincovi na základe jeho variácie alel priradené. Každý analyzovaný metabolizmus má rôzne množstvá bodových mutácií, ktoré ho ovplyvňujú a preto pri hodnotení výskytu rizikových jedincov v európskej populácii boli vytvárané všetky existujúce možnosti hodnôt, ktoré by jedinec zapadajúci do európskej populácie mohol dosiahnuť. Takto sme dostali percentuálne množstvo jedincov, ktorí zapadajú buď do jedného z dvoch existujúcich extrémov (prvý extrém, kedy daný jedinec nemá ani jednu bodovú mutáciu a druhý extrém, keď daný jedinec má všetky existujúce bodové mutácie pre daný metabolizmus) alebo niekde do spektra hodnôt, ktoré tieto dva extrémny vymedzujú. **(Zidek, 2016)**

Na záver analýzy bolo pre 44 jedincov vyhodnotených ich jedinečné riziko podľa výšky skóre, ktoré im boli v jednotlivých metabolizmoch pridelené a taktiež boli pre každého jedinca sformulované odporúčania, na základe ktorých bude sám schopný si v budúcnosti vybrať vhodné lieky, ktoré budú pre jeho organizmus najlepšou voľbou.

4. VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vyhľadáváním v genetických a farmakologických databázach sme dostali súbor bodových mutácií, ktoré sa viazali k metabolizmom jedného alebo viacerých analyzovaných liečiv. Následne po separácii tých, ktoré sa génomom čípe *Illumina Omni Express-24* nevyskytovali, súbor zvyšných analyzovateľných 23 bodových mutácií bol rozdelený pre jednotlivé liečivá. (Tabuľka 2).

Tabuľka 2: Rozdelenie nájdených bodových mutácií podľa liečiva

Kys. acetylsalicylová	Paracetamol	Ibuprofén	Naproxén
Rs2074190	Rs1467558	Rs10509681	Rs10509681
Rs4124874	Rs4124874	Rs1057910	Rs1057910
Rs4794067	Rs13117745	Rs11572080	Rs11572080
Rs5030868	Rs2880961	Rs12248560	Rs1799853
Rs5918		Rs1799853	Rs28371685
Rs13117745		Rs28371685	Rs28371686
Rs2070959		Rs28371686	Rs67807361
Rs6759892		Rs28371725	Rs72558190
		Rs67807361	Rs7900194
		Rs72558190	Rs9332131
		Rs7900194	Rs28399424
		Rs9332131	Rs13117745
		Rs13117745	

Väčšina z týchto mutácií spôsobuje zníženie alebo úplné potlačenie aktivity určitého enzýmu, ktorý sa zúčastňuje metabolizmu daného liečiva v organizme. Ostatné nájdené bodové mutácie zvyšovali riziko prejavu nežiaducich účinkov týchto liečiv, ako napríklad gastrointestinálneho krvácania alebo astmy. Len mutácia Rs12248560 spôsobovala zvýšenie aktivity metabolizujúceho enzýmu. (Sim et al., 2006)

K nájdeným bodovým mutáciám boli priradené varianty genotypov, ktoré sa pri nich vyskytujú, frekvencia výskytu týchto genotypov a bolo im udelené genetické skóre na základe ich závažnosti pre jedinca.

4.1 Výsledky analýzy miery rizika príjmu kyseliny acetylsalicylovej

Metabolizmus kyseliny acetylsalicylovej jedincov spadajúcich do európskej populácie môže ovplyvniť 8 bodových mutácií (Tabuľka 3).

Tabuľka 3: Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus kyseliny acetylsalicylovej

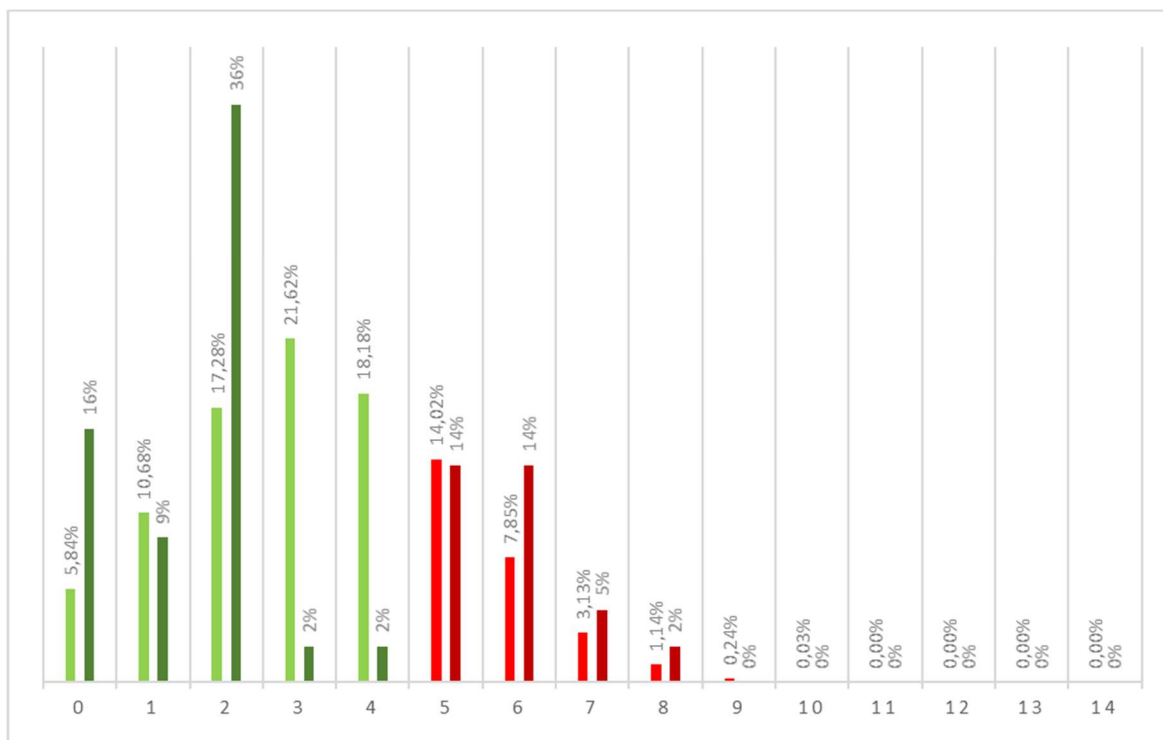
	Varianty genotypov			Hodnoty genetického skóre			Výskyt genotypov		
	aa	ab	bb	aa	ab	bb	aa	ab	bb
rs2074190	AA	AG	GG	0	2	2	54,170%	38,861%	6,970%
rs4124874	TT	GT	GG	0	0	2	34,106%	48,589%	17,306%
rs4794067	TT	CT	CC	0	2	2	54,464%	38,671%	6,864%
rs5030868	AA	AG	GG	2	1	0	0,000%	0,160%	99,840%
rs5918	TT	CT	CC	0	1	2	75,342%	22,915%	1,742%
rs13117745	TT	CT	CC	2	0	0	1,932%	23,936%	74,132%
rs2070959	AA	AG	GG	1	0	0	47,610%	42,780%	9,610%
rs6759892	TT	GT	GG	1	0	0	38,069%	47,262%	14,669%

Mutácie rs2074190 a rs4794067 predstavujú pre ich nositeľa zvýšené riziko vzniku astmy spôsobenej práve konzumáciou liekov s obsahom kyseliny acetylsalicylovej. Pre genotypy rs2074190 (G;G), rs2074190 (A;G), rs4794067 (C;C) a rs4794067 (C;T) ide o 2,15-násobné zvýšenie rizika vzniku tohto ochorenia. (Akahoshi et al., 2005)

Mutácia rs5918 je spájaná vyslovene s účinkom kyseliny acetylsalicylovej pri infarkte myokardu. U nositeľov (C) alely sa 4-násobne zvyšuje riziko infarktu a po požití lieku obsahujúceho kyselinu acetylsalicylovú sa nedostavuje požadované zriedenie krvi, ktoré by mohlo odvrátiť smrteľné následky tohoto ochorenia. (Weiss et al., 1996)

Ostatné mutácie majú majú vplyv na funkciu enzýmov zúčastňujúcich sa metabolizmu kyseliny acetylsalicylovej. Ide o znižovanie funkcie týchto enzýmov, čo vedie k zvýšenej kumulácii liečiva v organizme.

Distribúcia rizika v európskej populácii je typická (Obrázok 11) a je predpoklad, že reálna distribúcia rizika na Slovensku by mala tento trend, čo by sa dalo potvrdiť analýzou väčšej skupiny jedincov. Pre väčšiu časť európskej populácie predstavuje užívanie liekov s obsahom kyseliny acetylsalicylovej typické riziko a teda ide o skupinu, ktorá by sa mala riadiť pri užívaní týchto liekov všeobecnými pravidlami danými v príbalových informáciách.



Svetlé stĺpce – percentuálne zobrazenie distribúcie rizika v európskej populácii
 Tmavé stĺpce – percentuálne zobrazenie reálnej distribúcie rizika v analyzovanej vzorke

Obrázok 11: Distribúcia rizika príjmu kyseliny acetylsalicylovej

Z našej analyzovanej skupiny reprezentujúcej populáciu Slovenskej republiky ide konkrétne o 6 jedincov so skóre 5, 6 jedincov so skóre 6, 2 jedincov so skóre 7 a jedného so skóre 8. Táto riziková skupina 15 jedincov by mala pri potrebe utlmiť bolesť alebo aj pri chrípkových stavoch uprednostniť iné liečivo.

4.2 Výsledky analýzy miery rizika príjmu paracetamolu

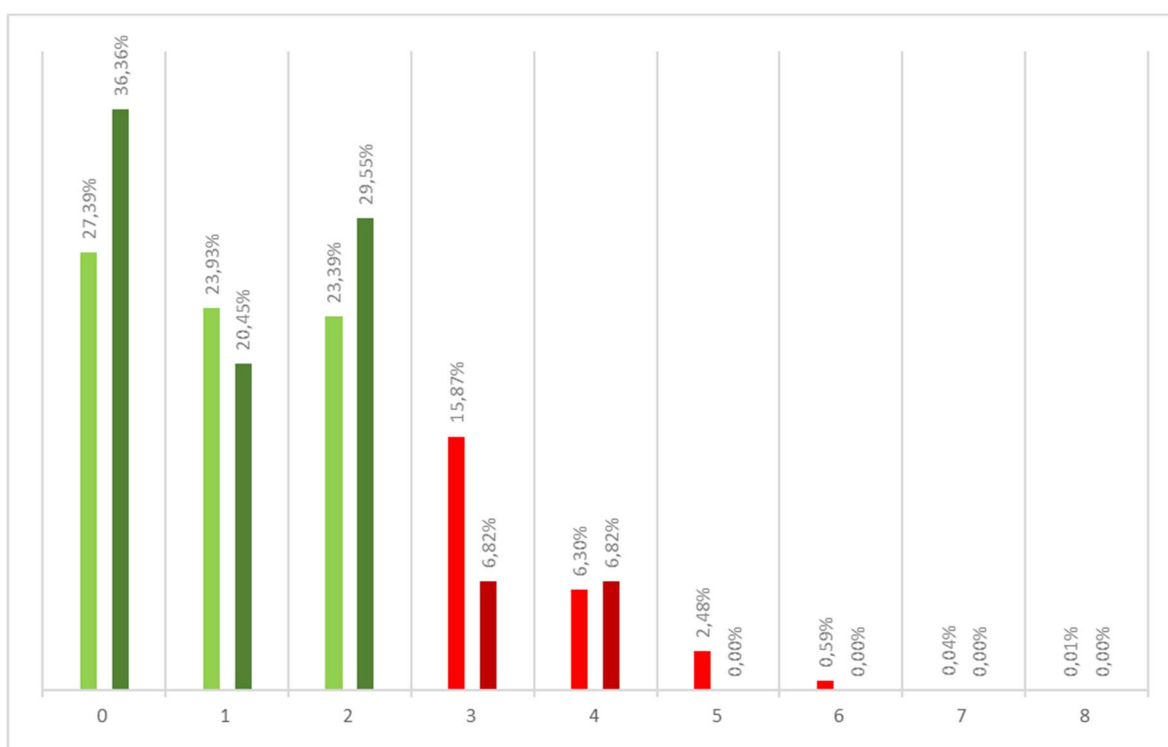
Počas našej analýzy sme ďalej hodnotili mieru rizika príjmu paracetamolu, konkrétne pri prípadnom nositeľstve 4 mutácií (**Tabuľka 4**). Z nich bodová mutácia rs13117745 je mutácia vzťahujúca sa ku všetkým nesteroidným antiflogistikám a jej prítomnosť spôsobuje zvýšené riziko vzniku kolorektálneho karcinómu u homozygotov (T;T). (**Seufert et al., 2013**)

Tabuľka 4: Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus paracetamolu

	Varianty genotypov			Hodnoty genetického skóre			Výskyt genotypov		
	aa	ab	bb	aa	ab	bb	aa	ab	bb
rs1467558	TT	CT	CC	0	2	0	3,460%	30,281%	66,260%
rs4124874	TT	GT	GG	0	0	2	34,106%	48,589%	17,306%
rs13117745	TT	CT	CC	2	0	0	1,932%	23,936%	74,132%
rs2880961	TT	CT	CC	2	1	0	9,242%	42,317%	48,442%

Ostatné mutácie ovplyvňujúce bezpečné užívanie paracetamolu sa viazali k zvýšenej hepatotoxicite. Ako už bolo spomínané, paracetamol je hepatotoxický aj u jedincov, ktorí nemajú genetickú predispozíciu, preto v prípade ešte zvýšeného rizika vplyvom nositeľstva mutantnej alely, by sa títo jedinci mali vyhýbať užívaniu paracetamolu a radšej siahnuť po inom preparáte proti bolesti.

V nami testovanej skupine bolo rizikových jedincov 6 – traja mali hodnotu skóre 3 a traja 4. Distribúcia rizika príjmu paracetamolu (**Obrázok 12**) u jedincov zo Slovenska približne kopírovala trend distribúcie rizika v európskej populácii.



Svetlé stĺpce – percentuálne zobrazenie distribúcie rizika v európskej populácii
 Tmavé stĺpce – percentuálne zobrazenie reálnej distribúcie rizika v analyzovanej vzorke

Obrázok 12: Distribúcia rizika príjmu paracetamolu

4.3 Výsledky analýzy miery rizika príjmu ibuprofenu

Pre metabolizmus ibuprofenu bolo analyzovaných až 13 bodových mutácií (**Tabuľka 5**). Mimo už spomínanej mutácie rs13117745, ktorá sa spája so vznikom kolorektálneho karcinómu, boli analyzované mutácie rs10509681, rs1057910, rs11572080 a rs1799853, ktoré sú spojené so zvýšeným rizikom akútneho krvácania do gastrointestinálneho traktu pri požití nesteroidných antiflogistík ibuprofenu a naproxenu. Najrizikovejší sú v tomto prípade homozygoti rs10509681 (C;C), rs1057910 (C;C),

rs11572080 (T;T) a rs1799853 (T;T). Výskyt takýchto genotypov v európskej populácii sa pohybuje okolo 1%. (Agúndez et al., 2009)

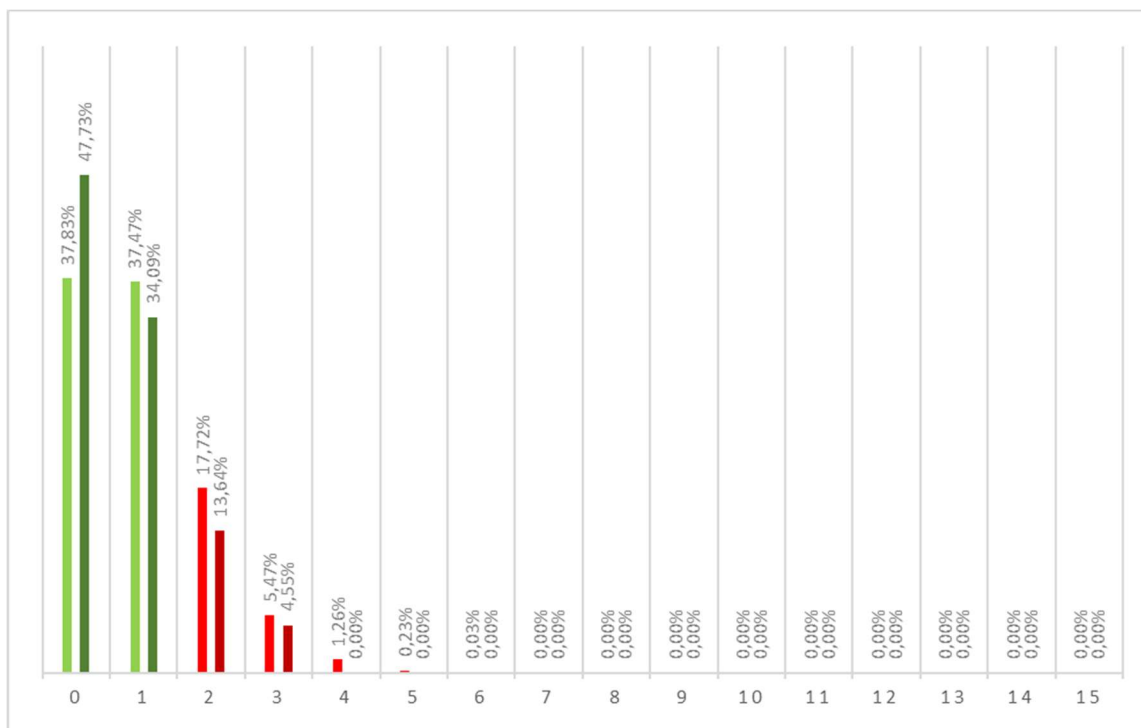
Tabuľka 5: Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus ibuprofenu

	Varianty genotypov			Hodnoty genetického skóre			Výskyt genotypov		
	aa	ab	bb	aa	ab	bb	aa	ab	bb
rs10509681	TT	CT	CC	0	0	2	77,792%	20,815%	1,392%
rs1057910	AA	AC	CC	0	1	2	85,933%	13,534%	0,533%
rs11572080	TT	CT	CC	2	1	0	1,392%	20,815%	77,792%
rs12248560	TT	CT	CC	1	0	0	5,018%	34,765%	60,218%
rs1799853	TT	CT	CC	2	1	0	1,538%	21,725%	76,738%
rs28371685	TT	CT	CC	2	1	0	0,000%	0,399%	99,600%
rs28371686	CC	CG	GG	0	1	2	99,082%	0,916%	0,002%
rs28371725	TT	CT	CC	2	1	0	0,865%	16,870%	82,265%
rs67807361	AA	AC	CC	2	1	0	0,000%	0,280%	99,720%
rs72558190	AA	AC	CC	2	1	0	0,000%	0,002%	99,998%
rs7900194	AA	AG	GG	2	1	0	0,000%	0,399%	99,600%
rs9332131	II	ID	DD	0	1	2	99,560%	0,439%	0,000%
rs13117745	TT	CT	CC	2	0	0	1,932%	23,936%	74,132%

Vzhľadom k tomu, že riziko vzniku akútneho gastrointestinálneho krvácania pri tejto mutácií úzko súvisí s látkami metabolizovanými enzýmami CYP2C8 a CYP2C9, toto riziko je zvýšené aj pri užívaní iných liekov – konkrétne liekov s obsahom liečiva aceklofenak, celekoxib, dikofenak, indometacín, lornoxikam, meloxicam, piroxikam, tenoxicam či valekoxib. (Agúndez et al., 2009)

Zostávajúce mutácie sa spájajú so zníženou funkciou rôznych enzýmov cytochrómu P450, konkrétne enzýmov patriacich do druhej skupiny. Keďže tieto enzýmy patria medzi enzýmy podieľajúce sa na biotransformácii väčšiny xenobiotík a viac ako 100 známych liečiv, môžu byť spájané s omnoho väčším množstvom zdravotných ťažkostí a pre jedinca, ktorý je nositeľom týchto mutácií, môže byť aj rizikové aj požívanie často predpisovaných liekov na liečbu kardiovaskulárnych ochorení, antidepresív, antiepileptík či anestetík. (Rettie, 2005) (The Trustees of Indiana University, 2016)

Distribúcia rizika v európskej populácii ako aj reálna distribúcia rizika v analyzovanej skupine (Obrázok 12) má typický ditribučný trend. Rizikovní jedinci dosiahli skóre od 2 vyššie, konkrétne pre našu skupinu analyzovaných to bolo 8 jedincov, z nich 6 malo najnižšie rizikové skóre 2 a zvyšní dvaja jedinci dosiahli skóre 3.



Svetlé stĺpce – percentuálne zobrazenie distribúcie rizika v európskej populácii
Tmavé stĺpce – percentuálne zobrazenie reálnej distribúcie rizika v analyzovanej vzorke

Obrázok 13: Distribúcia rizika príjmu ibuprofénu
(zobrazenie relevantných hodnôt 0-15)

4.4 Výsledky analýzy miery rizika príjmu naproxénu

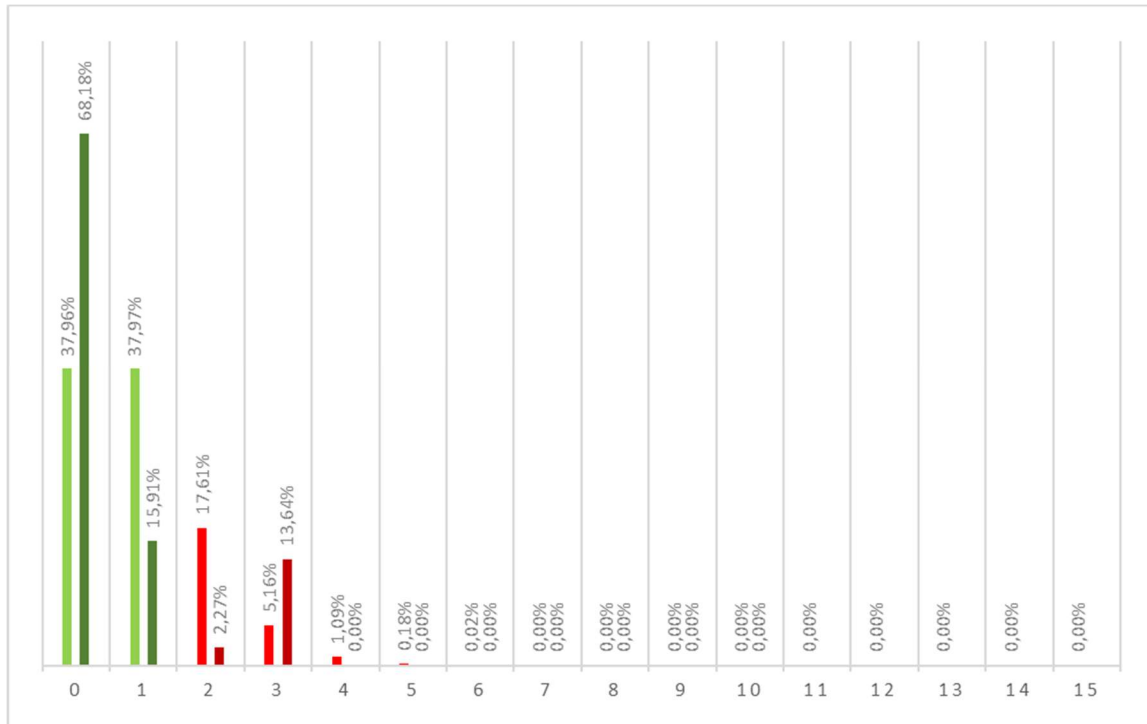
Metabolizmu naproxénu a ibuprofénu sa zúčastňujú enzýmy cytochrómu P 450, zväčša ide o enzýmy rovnakej skupiny, a preto je skupina analyzovaných mutácií pre naproxén (**Tabuľka 6**) skoro identická s mutáciami analyzovanými pre ibuprofén.

Tabuľka 6: Prehľad bodových mutácií pre metabolizmus naproxénu

	Varianty genotypov			Hodnoty genetického skóre			Výskyt genotypov		
	aa	ab	bb	aa	ab	bb	aa	ab	bb
rs10509681	TT	CT	CC	0	1	2	77,792%	20,815%	1,392%
rs1057910	AA	AC	CC	0	1	2	85,933%	13,534%	0,533%
rs11572080	TT	CT	CC	2	1	0	1,392%	20,815%	77,792%
rs1799853	TT	CT	CC	2	1	0	1,538%	21,725%	76,738%
rs28371685	TT	CT	CC	2	1	0	0,000%	0,399%	99,600%
rs28371686	CC	CG	GG	0	1	2	99,082%	0,916%	0,002%
rs67807361	AA	AC	CC	2	1	0	0,000%	0,280%	99,720%
rs72558190	AA	AC	CC	2	1	0	0,000%	0,002%	99,998%
rs7900194	AA	AG	GG	2	1	0	0,000%	0,399%	99,600%
rs9332131	II	ID	DD	0	1	2	99,560%	0,439%	0,000%
rs28399424	TT	CT	CC	2	2	0	0,001%	0,598%	99,401%
rs13117745	TT	CT	CC	2	0	0	1,932%	23,936%	74,132%

Rozdiel v analýze týchto dvoch liečiv spočíva v mutácii rs28399424, ktorá sa spája so znížením funkcie enzýmu CYP1A2 u nositeľov alely (T).

Reálna distribúcia rizika v analyzovanej skupine 44 dobrovoľníkov nie úplne korešponduje s trendom distribúcie rizika v európskej populácii (**Obrázok 12**), čo je ale spôsobené len malým počtom jedincov v štatistickej skupine. Konkrétne v našej skupine bolo zistených až 7 rizikových jedincov, z toho len jeden dosiahol skóre 2 a až 6 jedincov malo skóre 3.



Svetlé stĺpce – percentuálne zobrazenie distribúcie rizika v európskej populácii
 Tmavé stĺpce – percentuálne zobrazenie reálnej distribúcie rizika v analyzovanej vzorke

Obrázok 14: Distribúcia rizika príjmu naproxénu
 (zobrazenie relevantných hodnôt 0-15)

Za tento relatívne vysoký počet rizikových jedincov v analyzovanej skupine by mohlo byť zodpovedná práve analýza mutácie rs28399424, ktorá sa pri analýze ibuprofenu neposudzovala. Nositelia tejto mutácie majú metabolizovania naproxénu problém aj s metabolizáciou kofeínu a aflatoxínu B1. (**National Center for Biotechnology Information, 2017**)

Zatiaľ čo množstvo kofeínu je jeden z povinných výživových údajov na potravinách, ktoré ho obsahujú, a spotrebiteľ má teda možnosť dobrovoľného rozhodnutia; aflatoxín B1 je život ohrozujúci sekundárny metabolit mikrobiálnej vláknitej huby *Aspergillus flavus* a teda sa bežne na obale výrobku neuvádza. Maximálne povolené množstvo tohto toxínu v potravině je 12 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a pre bežného spotrebiteľa by nemalo byť toto množstvo škodlivé.

(Lawley, 2013) Je ale na uváženie, či toto množstvo nie je pri nositeľstve mutácie rs28399424 už rizikové.

4.5 Vyhodnotenie genetického profilu analyzovaných jednotlivcov

Jedným z cieľov analýzy bolo vypracovanie personálneho profilu 44 dobrovoľných jedincov. Za svoj genotypový variant im bolo pridelené skóre za každú jednu analyzovanú mutáciu. Genetické skóre sa zráta pre každý metabolizmus zvlášť (Tabuľka 7). Hodnoty, ktoré už spadajú pre daný metabolizmus do rizikovej oblasti sú vyznačené červenou.

Tabuľka 7: Prehľad sumárnych hodnôt genetického skóre analyzovaných jedincov

Číslo vzorky	Sumárne genetické skóre				Číslo vzorky	Sumárne genetické skóre			
	A	P	I	N		A	P	I	N
1	0	2	0	0	23	1	1	1	0
2	0	0	0	0	24	6	0	0	0
3	2	0	1	0	25	5	2	0	0
4	2	1	2	2	26	2	4	0	0
5	6	0	0	0	27	2	0	1	0
6	0	1	0	0	28	1	1	2	3
7	4	4	0	0	29	7	0	1	1
8	8	2	0	0	30	6	0	0	0
9	2	3	2	3	31	0	2	0	0
10	5	2	0	0	32	0	1	1	1
11	2	0	0	0	33	5	2	1	1
12	2	2	0	0	34	2	0	1	0
13	0	0	0	0	35	1	0	0	0
14	6	4	1	0	36	2	3	3	3
15	5	0	0	0	37	2	0	1	0
16	2	1	1	0	38	7	0	1	1
17	2	2	3	3	39	2	2	1	1
18	6	0	0	0	40	2	3	1	1
19	1	0	0	0	41	3	2	0	0
20	5	1	2	3	42	0	2	1	0
21	2	2	2	3	43	2	1	0	0
22	5	1	1	0	44	6	2	2	1

Hodnota „A“ – sumárna hodnota genetického skóre pre analýzu metabolizmu kyseliny acetylsalicylovej

Hodnota „P“ – sumárna hodnota genetického skóre pre analýzu metabolizmu paracetamolu

Hodnota „I“ – sumárna hodnota genetického skóre pre analýzu metabolizmu ibuprofenu

Hodnota „N“ – sumárna hodnota genetického skóre pre analýzu metabolizmu naproxénu

Pomocou hodnôt sumárneho genetického skóre pre každý analyzovaný metabolizmus a ich porovnaním s grafmi distribúcie rizika (Obrázky 11 – 14) sme schopní

sformulovať odporúčania pre každého analyzovaného jedinca vzhľadom na jedinečnosť jeho organizmu (Tabuľka 8).

Tabuľka 8: Grafická sumarizácia odporúčaní pre analyzovaných jedincov

Číslo vzorky	A	P	I	N		Číslo vzorky	A	P	I	N
1	✓	✓	✓	✓		23	✓	✓	✓	✓
2	✓	✓	✓	✓		24	⊘	✓	✓	✓
3	✓	✓	✓	✓		25	⊘	✓	✓	✓
4	✓	✓	⊘	⊘		26	✓	⊘	✓	✓
5	⊘	✓	✓	✓		27	✓	✓	✓	✓
6	✓	✓	✓	✓		28	✓	✓	⊘	⊘
7	✓	⊘	✓	✓		29	☠	✓	✓	✓
8	☠	✓	✓	✓		30	⊘	✓	✓	✓
9	✓	⊘	⊘	⊘		31	✓	✓	✓	✓
10	⊘	✓	✓	✓		32	✓	✓	✓	✓
11	✓	✓	✓	✓		33	⊘	✓	✓	✓
12	✓	✓	✓	✓		34	✓	✓	✓	✓
13	✓	✓	✓	✓		35	✓	✓	✓	✓
14	⊘	⊘	✓	✓		36	✓	⊘	⊘	⊘
15	⊘	✓	✓	✓		37	✓	✓	✓	✓
16	✓	✓	✓	✓		38	☠	✓	✓	✓
17	✓	✓	⊘	⊘		39	✓	✓	✓	✓
18	⊘	✓	✓	✓		40	✓	⊘	✓	✓
19	✓	✓	✓	✓		41	✓	✓	✓	✓
20	⊘	✓	⊘	⊘		42	✓	✓	✓	✓
21	✓	✓	⊘	⊘		43	✓	✓	✓	✓
22	⊘	✓	✓	✓		44	⊘	✓	⊘	✓

„A“ – lieky s obsahom kyseliny acetylsalicylovej

„I“ – lieky s obsahom ibuprofenu

✓ - liek je vhodný pre daného jedinca

☠ - liek môže jedincovi spôsobiť vážne zdravotné ťažkosti

„P“ – lieky s obsahom kyseliny acetylsalicylovej

„N“ – lieky s obsahom naproxenu

⊘ - liek je nevhodný pre daného jedinca

ZÁVER

Motívom pre spracovanie témy poukazujúcej na možnú rizikovosť nekontrolovaného a neodborného užívania voľnopredajných liekov proti bolesti bola osobná príležitosť sledovať rozširujúce sa poškodenie organizmu jedinca, ktorý nielenže nepoznal jedinečnosť vlastného organizmu a svoje genetické predispozície ovplyvňujúce pôsobenie týchto liekov, ale neprikladal ich prípadnému škodlivému účinku ani len takú váhu, akú prikladal sociálnym a ekonomickým faktorom, ktorými u neho bolo nadužívanie týchto liekov ovplyvnené.

Jedným z cieľov tejto práce bolo poukázať na prípadné nebezpečenstvo pri neuváženej konzumácii týchto liekov a potvrdiť ho vykonanou analýzou miery rizika ako pre európsku populáciu, tak pre konkrétnych jedincov zo Slovenskej republiky. Teoretická časť sa preto venovala zhrnutiu dostupných poznatkov o týchto liečivách, o ich špecifickej vhodnosti na konkrétne chorobné stavy a o ich nežiaducich účinkoch. Hlavne sa však venovala dráham a procesom, ktorými prechádzajú liečivá v organizme, nakoľko sú veľmi podobné dráham a procesom biotransformácie xenobiotík, ktoré sú, narozdiel od liekov, vnímané ako rizikové a bezpečnostným opatreniam súvisiacim s ich prestupom do organizmu sa venuje adekvátne pozornosť.

Ďalším cieľom bolo vytvorenie spoľahlivého postupu na zhodnotenie miery rizika u jednotlivcov a použitie tohoto postupu na vytvorenie ich profilov. Do tejto práce boli vybraté bodové mutácie, ktoré priamo ovplyvňujú metabolizmy týchto liečiv, a na základe závažnosti ich prejavu bolo možné vytvoriť jedinečné odporúčanie pre 44 dobrovoľníkov. Len menej ako polovicu z nich by sme touto analýzou dokázali ubezpečiť, že ak sa budú držať inštrukcií lekárniky alebo príbalovej informácie, ich zdravotný stav nie je ohrozený. U nadpolovičnej väčšiny sa preukázalo riziko príjmu jedného alebo viac liečiv, čo týchto jedincov obmedzuje pri prípadnej liečbe.

U jedincov s číslami vzoriek 8, 29 a 38 analýza preukázala veľmi zvýšené riziko pri konzumácii liekov na báze kyseliny acetylsalicylovej súvisiace ako s gastrointestinálnym krvácaním, tak so zníženým účinkom enzýmov metabolizujúcich toto liečivo. Ich možnosť výberu vhodného liečiva sme znížili na tri ostatné analyzované liečivá, zatiaľ čo jedincom s číslami vzoriek 9, 20 a 36 analýza znížila možnosť ich výberu vhodného analgetického liečiva o 75%.

Títo jedinci by mohli byť jedným z mnoha príkladov, prečo je personalizácia starostlivosti o spotrebiteľa pozitívnym krokom vpred. Pojem spotrebiteľ je použitý zámerne, nakoľko hovoríme o produktoch, ktoré sú voľnedostupné širokej verejnosti a ich nadmerné a nekontrolované užívanie stiera rozdiely medzi potravinami a humánnymi liekmi.

Paradoxom dnešnej doby je, že jediná vec, ktorá by ľudí odrádzala od nadmernej konzumácie liekov proti bolesti, nie je odborná informovanosť, ale šírenie nepodložených konšpiračných informácií. Uvážené užívanie voľnopredajných liekov akoby sa vytrácalo a dostávame sa k rozdeleniu na dva extrémne tábory – ľudí, ktorí si neuvedomujú, že liek môže byť aj jedom a ľudí, ktorí zabudli, že lieky neboli vynájdené pre uškodenie, ale pre pomoc.

V úplnom závere práce by som chcela zdôrazniť, že zodpovedné užívanie voľnopredajných liekov proti bolesti a na zmiernenie chrípkových stavov nepovažujem za nebezpečné a stále sa k nim staviam ako k látkam prinášajúcim prioritne benefity. Som ale toho názoru, že k nim stále treba pristupovať ako ku xenobiotikám, je potrebné si uvedomovať všetky riziká, ktoré ich užívanie môže prinášať a v neposlednom rade netreba zabúdať, že ak aj „ružová tabletká“ nespôsobuje ťažkosti iným ľuďom, neznamená to, že práve my nemôžeme byť tými, o koho to bude naopak.

BIBLIOGRAFIA

Adams S.S. The Propionic Acids: A Personal Perspective [Časopis] // The Journal of Clinical Pharmacology. - [s.l.] : John Wiley & Sons, Inc., April 1992. - 4 : Zv. 32. - s. 317-323. - 1552-4604.

Agúndez et al. J.A. Genetically based impairment in CYP2C8- and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: is a combination of pharmacogenomics and metabolomics required to improve personalized medicine? [Časopis] // Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. - London : Taylor and Francis Group, June 2009. - 6 : Zv. 5. - s. 607-620. - 1744-7607.

AHFS DI Essentials AHFS Monographs [Online] // Drugs.com. - American Society of Health-System Pharmacists, 6. June 2016. - <https://www.drugs.com/monograph/aspirin.html>. - CAS 50-78-2.

Akahoshi et al. M. Functional promoter polymorphism in the TBX21 gene associated with aspirin-induced asthma. [Časopis] // Human Genetics / ed. David N. Cooper Thomas J. Hudson. - [s.l.] : Springer, June 2005. - 1 : Zv. 117. - s. 16-26. - 1432-1203.

Aronoff et al. D.M. Antipyretics: mechanisms of action and clinical use in fever suppression [Časopis] = Am J Med // American Journal of Medicine. - [s.l.] : Elsevier, September 2001. - 4. - s. 304 - 15.

Bartleson et al. J.D. Migraine update. Diagnosis and treatment. [Časopis] = Minn Med // Minnesota Medicine. - Máj 2010. - 5 : Zv. 93. - s. 36-41.

Belay et al. E.D. Reye's Syndrome in the United States from 1981 through 1997 [Časopis] // The New England Journal of Medicine. - Waltham : Massachusetts Medical Society, May 1999. - 18 : Zv. 340. - s. 1377-1382. - 1533-4406.

Berges-Gimeno et al. M.P. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug-Inducted Reactions and Desensitization [Časopis] // Journal of Asthma. - Denver : Informa Healthcare, 2004. - 4 : Zv. 41. - s. 375-384. - 1532-4303.

Bertolini et al. A. Paracetamol: New Vistas of an Old Drug [Časopis] // CNS Drug Reviews. - September 2006. - 3-4 : Zv. 12. - s. 250-275. - 1179-1934 .

Botting R.M. Inhibitors of Cyclooxygenase: Mechanisms, Selectivity and Uses [Časopis] // Journal of Physiology and Pharmacology / ed. Department of Physiology Jagiellonian University, Krakow. - Krakow : [s.n.], 2006. - 5 : Zv. 57. - s. 113-124. - 0867-5910.

Brodie et al. B.B. The estimation of acetanilide and its metabolic products, aniline, N-acetyl p-aminophenol and p-amino-phenol, free and total conjugated, in biological fluids and tissues. [Časopis] // The Journal of Pharmacology and experimental therapeutics. - September 1948. - 1 : Zv. 94. - s. 22-28. - PMID: 18885610.

- Buer J.K.** Origins and impact of the term 'NSAID' [Časopis] // Inflammopharmacology. - [s.l.] : Springer International Publishing AG. Part of Springer Nature, Október 2014. - 5 : Zv. 22. - s. 263-7.
- Burton M.E.** Applied Pharmacokinetics & Pharmacodynamics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring [Kniha]. - [s.l.] : Lippincott Williams & Wilkins, 2006. - 4. - 0-7817-4431-8.
- Castellsague et al. J.** Individual NSAIDs and Upper Gastrointestinal Complications [Časopis] // Drug Safety. - [s.l.] : Springer, December 2012. - 12 : Zv. 35. - s. 1127-1146. - 1179-1942.
- Dammann et al. H.G.** Effects of buffered and plain acetylsalicylic acid formulations with and without ascorbic acid on gastric mucosa in healthy subjects [Časopis] // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. - [s.l.] : Blackwell Publishing Ltd, January 2004. - 3 : Zv. 19. - s. 367-374.
- Daniel et al. S.** Fetal exposure to nonsteroidal anti-inflammatory drugs and spontaneous abortions [Časopis] // Canadian Medical Association Journal. - [s.l.] : Canadian Medical Association, March 2014. - 5 : Zv. 186. - s. E177-E182. - 1488-2329.
- Delaney et al. J.A.** Drug–drug interactions between antithrombotic medications and the risk of gastrointestinal bleeding [Časopis] // Canadian Medical Association Journal. - Ottawa : Joule Inc., August 2007. - 4 : Zv. 177. - s. 347-351.
- Ellis F.** Paracetamol - a curriculum resource [Kniha] / ed. Osborne C. Pack M.. - London : The Royal Society of Chemistry, 2002. - s. 8-12. - 0-85404-375-6.
- Fanos et al. V.** Ibuprofen and acute kidney injury in the newborn [Časopis] // The Turkish Journal of Pediatrics. - Ankara : Turkish National Pediatric Society, May 2010. - 3 : Zv. 52. - s. 231-238. - 0041-4301.
- Favre H.A.** Nomenclature of Organic Chemistry. IUPAC Recommendations and Preferred Name 2013 [Kniha]. - Cambridge : Royal Society of Chemistry, 2013. - ISBN 978-0-85404-182-4.
- Fiorucci et al. S.** Interaction of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor with aspirin and NO-releasing aspirin in the human gastric mucosa [Časopis] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America / ed. M.Verma Inder. - Washington : Kenneth R. Fulton, September 2003. - 19 : Zv. 100. - s. 10937 - 10941.
- Forman et al. J.P.** Non-Narcotic Analgesic Dose and Risk of Incident Hypertension in US Women [Časopis] // Hypertension. - [s.l.] : American Hearth Association, September 2005. - 3 : Zv. 46. - s. 500-507. - 1524-4563.
- Gaciong Z.** The real dimension of analgesic activity of aspirin [Časopis] // Trombosis Research. - Warsaw : Elsevier Inc., June 2003. - 5 : Zv. 110. - s. 361-364.

- García Rodríguez et al. L.A.** Risk of Upper Gastrointestinal Bleeding With Low-Dose Acetylsalicylic Acid Alone and in Combination With Clopidogrel and Other Medications [Časopis] // *Circulation*. - [s.l.] : American Heart Association, Inc., February 2011. - 10 : Zv. 123. - s. 1108-1115. - 1524-4539.
- Gerth J. Miller T.Ch.** Dose of Confusion [Online] // ProPublica. - 20. September 2013. - <https://www.propublica.org/article/tylenol-mcneil-fda-kids-dose-of-confusion>.
- Gerth J.** Use Only As Directed [Online] // ProPublica. - 20. September 2013. - <https://www.propublica.org/article/tylenol-mcneil-fda-use-only-as-directed>.
- Gorelick P.B.** Cerebral Microbleeds. Evidence of Heightened Risk Associated With Aspirin Use [Časopis] // *JAMA Neurology*. - [s.l.] : UCSF School of Medicine, 2009. - 6 : Zv. 66. - s. 691-693.
- Guitton et al. M.J.** Salicylate Induces Tinnitus through Activation of Cochlear NMDA Receptors [Časopis] // *The Journal of Neuroscience*. - Washington : Society of Neuroscience, May 2003. - 9 : Zv. 23. - s. 3944-3952. - 1529-2401.
- Haag et al. G.** Self-medication of migraine and tension-type headache: summary of the evidence-based recommendations of the DMKG, DGN, ÖKSG and SKG [Časopis] // *The Journal of Headache and Pain*. - London : Springer Open, April 2011. - 2 : Zv. 12. - s. 201-217. - 1129-2377.
- Halford et al. G.M.** 50th anniversary of the discovery of ibuprofen: an interview with Dr Stewart Adams. [Časopis] // *Platelets* / ed. S.P. Watson. - Birmingham : Taylor & Francis, 2012. - 6 : Zv. 23. - s. 415-422. - 1369-1635.
- Harrington et al. P.J.** Twenty Years of Naproxen Technology [Časopis] // *Organic Process Research & Development* / ed. Rossen Kai. - Washington DC : American Chemical Society, 1997. - Zv. 1. - s. 72-76. - 1520-586X.
- Hayat et al. S.** Salicylic Acid. Plant Growth and Development [Kniha]. - [s.l.] : Springer Netherlands, 2013. - 978-94-007-6428-6.
- Hochberg et al. M.C.** American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. [Časopis] // *Arthritis Care & Research*. - Hoboken : John Wiley & Sons, Inc., April 2012. - 4 : Zv. 64. - s. 465-474. - 2151-4658.
- Joncour et al. R.** Amidation of phenol derivatives: a direct synthesis of paracetamol (acetaminophen) from hydroquinone [Časopis] // *Green Chemistry*. - London : The Royal Society of Chemistry, 2014. - Zv. 16. - s. 2997-3002. - 1463-9270.
- Knejzlík et al. Z.** Nepříznivý vliv xenobiotik na lidský organismus a metody jeho testování [Časopis] // *Chemické listy*. - Praha : Czech Chemical Society, April 1999. - Zv. 93. - s. 607-615. - 0009-2770.

- Komárek P.** Technologie léků [Kniha]. - [s.l.] : Galén, 2006. - 8072624237.
- Lawley R.** Aflatoxins [Online] // Food Safety Watch. - Food Safety Info., January 2013. - April 2017. - <http://www.foodsafetywatch.org/factsheets/aflatoxins/>.
- Lenz et al. K.M.** Microglia Are Essential to Masculinization of Brain and Behaviour [Časopis] // Journal of Neuroscience / ed. Nugent B.M. Haliyur R., McCarthy M.M. - Washington : Society for Neuroscience, February 2013. - 7 : Zv. 33. - s. 2761-2772. - 1529-2401.
- Loder et al. E.** Tension-type headache [Časopis] // British Medical Journal. - London : BMJ Publishing Group Ltd, January 2008. - 7635 : Zv. 336. - s. 88-92.
- Meremikwu et al. M.M.** Paracetamol versus placebo or physical methods for treating fever in children [Správa] / Cochrane Database of Systematic Reviews. - [s.l.] : John Wiley & Sons, Ltd., 2002.
- Merriam-Webster Inc.** Merriam-Webster [Online]. - 2017. - 9. Február 2017. - <https://www.merriam-webster.com/>.
- Meyler L.** Meyler's Side Effects of Drugs [Kniha] / ed. Dukes M.N.G. Aronson J.K.. - [s.l.] : Elsevier, 2000. - Zv. 14. - 978-0444500939.
- Národné centrum zdravotníckych informácií** Národné centrum zdravotníckych informácií (NCZI) [Online] // TOP 50 liekov. - Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky, 2011. - April 2017. - <http://www.nczisk.sk/Pages/default.aspx>.
- National Center for Biotechnology Information** CYP1A2 cytochrome P450 family 1 subfamily A member 2 [Homo sapiens (human)] [Online] // NCBI. - April 2017. - April 2017. - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=1544>.
- Nelson R.J.** An Introduction to Behavioral Endocrinology (Fourth edition) [Kniha]. - Ohio : Sinauer Associates, Inc., 2015. - 9781605353821.
- Nissen et al. S.E.** Cardiovascular Safety of Celecoxib, Naproxen, or Ibuprofen for Arthritis [Časopis] // The New England Journal of Medicine. - [s.l.] : Massachusetts Medical Society, November 2016. - 26 : Zv. 375. - s. 2519-2529. - 1533-4406.
- Palleros D.R.** Experimental Organic Chemistry [Kniha]. - [s.l.] : John Wiley & Sons, 2000. - 978-0-471-28250-1.
- PharmINFO spol. s r.o.** ADC [Online]. - ADC Solutions s. r. o., 9. Január 2012. - 9. Február 2017. - <https://www.adc.sk/>.
- Rainsford K.D.** Ibuprofen: Pharmacology, Therapeutics and Side Effects [Kniha]. - London : Springer, 2012. - 978-3-0348-0496-7.

Rang et al. H.P. Rang and Dale's Pharmacology (Sixth Edition) [Kniha] / ed. Dimock Kate. - [s.l.] : Elsevier Limited, 2007. - Zv. 6 : s. 226-236. - 9780443069116.

Rehmus W.E. Stevens-Johnson Syndrome (SJS) and Toxic Epidermal Necrolysis (TEN) [Online] // Merck Manual. - Merck & Co., Inc., November 2013. - February 2017. - <http://www.merckmanuals.com/professional/dermatologic-disorders/hypersensitivity-and-inflammatory-disorders/stevens-johnson-syndrome-sjs-and-toxic-epidermal-necrolysis-ten>.

Reichel et al. C. Molecular cloning and expression of a 2-arylpropionyl-coenzyme A epimerase: a key enzyme in the inversion metabolism of ibuprofen. [Časopis] // Molecular Pharmacology. - Bethesda : American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, May 1997. - 4 : Zv. 51. - s. 576-582. - 1521-0111.

Rettie A.E. Clinical and toxicological relevance of CYP2C9: drug-drug interactions and pharmacogenetics. [Časopis] // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. - [s.l.] : Annual Reviews, 2005. - Zv. 45. - s. 477-494. - 0362-1642.

S-EPI, s. r. o. Zákony pre ľudí [Online]. - 2010. - November 2016. - <http://www.zakonypreludi.sk/>.

Seshasai et al. S.R.K Effect of Aspirin on Vascular and Nonvascular Outcomes. Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. [Časopis] // JAMA Internal Medicine / ed. Medicine UCSF School of. - 2012. - 3 : Zv. 172. - s. 209-216. - 10.1001/archinternmed.2011.628.

Seufert et al. B.L. IκBκβ and NFκB1, NSAID use and risk of colorectal cancer in the Colon Cancer Family Registry. [Časopis] // Carcinogenesis / ed. Harris Curtis C.. - Oxford : Oxford University Press, January 2013. - 1 : Zv. 34. - s. 79-85. - 1460-2180.

Schrör K. Acetylsalicylic Acid [Kniha]. - [s.l.] : John Wiley & Sons, 2016. - Zv. 2. - 9783527685059.

Sim et al. S.C. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. [Časopis] // Clinical Pharmacology & Therapeutics / ed. Scott A. Waldman MD, PhD, FCP. - [s.l.] : John Wiley & Sons, Inc., January 2006. - 1 : Zv. 79. - s. 103-113. - 1532-6535.

ŠUKL Databáza liekov a zdravotníckych pomôcok [Online] // ŠUKL. - ui 42 spol. s r. o., 2017. - March 2017. - http://www.sukl.sk/sk/databazy-a-servis/databazy/vyhľadavanie-v-databaze-registrovaných-liekov?page_id=242.

The Trustees of Indiana University P450 Drug Interactions Abbreviated "Clinically Relevant" Table [Online] // Indiana University. - The Trustees of Indiana University, 2016. - March 2017. - <http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/clinical-table>.

U.S. Department of Health and Human Services, FDA Aspirin for Reducing Your Risk of Heart Attack and Stroke: Know the Facts [Online] // U.S. Food and Drug Administration. - 2014. -

<https://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/BuyingUsingMedicineSafely/UnderstandingOver-the-CounterMedicines/SafeDailyUseofAspirin/ucm291433.htm>.

U.S. Food and Drug Administration Acetaminophen Information [Online] // U.S. Food and Drug Administration. - U.S. Food and Drug Administration, 2011-2014. - February 2017. - <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/InformationbyDrugClass/ucm165107.htm>.

U.S. Food and Drug Administration FDA Strengthens Warning of Heart Attack and Stroke Risk for Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs [Online] // U.S. Food and Drug Administration. - U.S. Food and Drug Administration, July 2015. - <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm453610.htm>.

Van der Donk et al. W.A. The Cyclooxygenase Reaction Mechanism [Časopis] // Biochemistry. - [s.l.] : American Chemical Society, November 2002. - 52 : Zv. 41. - s. 15451-15458.

Warner-Schmidt et al. J.L. Antidepressant effects of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are attenuated by antiinflammatory drugs in mice and humans [Časopis] // Proceedings of the National Academy of Sciences / ed. I. Verma. - [s.l.] : United States National Academy of Sciences, May 2011. - 22 : Zv. 108. - s. 9262-9267. - 1091-6490.

Weiss et al. E.J. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. [Časopis] // The New England Journal of Medicine / ed. Drazen Jeffrey M.. - [s.l.] : Massachusetts Medical Society, April 1996. - 17 : Zv. 334. - s. 1090-1094. - 1533-4406.

Whirl-Carrillo et al. M. Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine [Časopis] // Clinical Pharmacology & Therapeutics. - [s.l.] : Wiley-Blackwell, 2012. - 4 : Zv. 92. - s. 414-417. - 1532-6535.

WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology [Online]. - November 2009. - 9. Február 2017. - <https://www.whocc.no/>.

Wishart et al. D.S. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. [Časopis] // Nucleic Acids Research. - [s.l.] : Oxford University Press, January 2006. - 34 (Database issue) : Zv. 1. - s. 668-672. - 1362-4962.

Zell et al. J.A. Neoplastic fever: a neglected paraneoplastic syndrome [Časopis] // Supportive Care in Cancer. - [s.l.] : Springer, November 2005. - 11 : Zv. 13. - s. 870-877. - 1433-7339.

Zidek R. Model of personalised risk assessment of phytoestrogen intake based on 11 SNP in ESR1 and ESR2 genes [Časopis] // Acta Fytotechnica et Zootechnica. - Nitra : Faculty of Agrobiolology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, 2016. - 4 : Zv. 19. - 1336-9245.